

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة سعد دحلب بليدة (1)
Université SAAD DAHLEB-Blida1



Faculté des Sciences de la Nature et de la
Vie Département de Biologie
Mémoire de fin d'études
En vue de l'obtention du diplôme de Master dans le domaine
SNV
Filière : Sciences Biologiques
Option : **Biochimie**

Thème :

**Potentiel thérapeutique d'une solution hygiénique à base de
Glycyrrhiza glabra L. dans la prise en charge de l'infection du
pied diabétique**

Présenté par :

soutenu le : 02/07/2025

M^{elle} ABDELBAKI. Insaf
M^{elle} KHELIF. Yousra
M^r RAMOUL. Yasser

Devant le jury composé de :

Dr. DROUCHE.I
Dr. TOUAIBIA.M
Dr. DJAIRENE.N

MCB/USDB1
MCA/USDB1
Docteur /USDB1

Présidente
Examinatrice
Promotrice

Année universitaire :2024/2025

قال الله تعالى

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

" وَقُلْ رَبِّ ادْخُلْنِيْ مُدْخَلَ صِدْقٍ وَّاَخْرِجْنِيْ مُخْرَجَ صِدْقٍ وَّاجْعَلْ لِّيْ مِنْ لَّدُنْكَ سُلْطٰنًا نَّصِيْرًا "

سورة الإسراء : الآية (80)

"يَرْفَعِ اللَّهُ الَّذِينَ آمَنُوا مِنْكُمْ وَالَّذِينَ أُوتُوا الْعِلْمَ دَرَجَاتٍ وَاللَّهُ بِمَا تَعْمَلُونَ خَبِيرٌ"

سورة المجادلة : الآية (11)

صدق الله العظيم

Remerciement

Chaque accomplissement est le fruit d'un effort, d'un soutien et d'une volonté supérieure. Ce travail n'aurait jamais vu le jour sans l'aide précieuse de plusieurs personnes, ni sans la bénédiction divine.

Avant tout, nous adressons nos remerciements les plus sincères et notre profonde gratitude à Dieu, Le Tout-Puissant, pour la force, la patience et la persévérance qu'il nous a accordées. C'est grâce à Sa volonté que nous avons pu franchir chaque étape de ce parcours, car l'homme propose, mais Allah dispose.

*Nous adressons nos vifs remerciements à Dr. **DROUCHE. I.** qui a eu la volonté d'accepter d'être présidente de ce jury. Au-delà de ce rôle, nous tenons à vous remercier chaleureusement pour tout ce que vous nous avez transmis durant notre parcours. Vous avez été une enseignante précieuse et cheffe d'option biochimie, toujours passionnée et bienveillante.*

*Nos remerciements les plus distingués à Dr. **TOUMBAIA.M.** Pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant d'examiner ce travail et l'enrichir des éminentes compétences scientifiques dont son enseignement et sa passion resteront des exemples pour nous. Veuillez accepter ce travail, en gage de notre grand respect et notre profonde reconnaissance.*

*En signe de profonde reconnaissance, nous souhaitons s'exprimer nos remerciements les plus sincères à notre chère enseignante encadrante, Dr. **DJARENE.N.** pour son accompagnement précieux tout au long de la réalisation de ce travail.*

Nous avons eu l'honneur de bénéficier de son expertise, de sa rigueur scientifique, ainsi que de ses conseils éclairés et de ses encouragements constants.

Par sa bienveillance, son énergie positive et son rôle de véritable guide, elle nous a soutenus, motivés et aidés à avancer, même dans les moments de doute.

Sa disponibilité, son écoute et la qualité de son encadrement ont été essentielles à l'aboutissement de ce mémoire.

Du fond du cœur,

Nous tenons aussi à remercier chaleureusement l'ensemble des enseignants du Département des Sciences Biologiques, pour la qualité de leur enseignement et leur contribution essentielle à notre formation.

*Nous exprimons également notre sincère gratitude à l'ensemble des médecins généralistes, en particulier Dr. **BONCHAOUNI** et Dr. **HASROURI**, ainsi qu'à d'autres confrères pour leur disponibilité et leurs conseils cliniques avisés. Nos remerciements s'adressent aussi aux infirmiers, notamment **M^c Tahar**, pour les soins réguliers apportés aux patients atteints d'ulcères du pied*

diabétique. Leur implication dans le suivi des patients et leur précieuse collaboration ont grandement contribué à notre compréhension du contexte médical et à la réalisation de ce travail.

*Nos chaleureux remerciements vont également à la coordinatrice **BOUTFA Samira**, pour son appui logistique, son écoute et sa réactivité, qui ont facilité nos démarches au sein du service.*

Nous adressons aussi un grand merci à la cheffe du service du laboratoire central des analyses médicales, unité de bactériologie, pour son accueil, sa bienveillance et son soutien tout au long de notre travail.

*Nous tenons à exprimer une gratitude particulière à **KADRI Mouhammed Samir**, dont l'aide précieuse dans l'accès aux dossiers cliniques des patients a grandement facilité notre travail. Son soutien, sa disponibilité et sa rigueur nous ont été d'une aide inestimable.*

*Nous tenons également à remercier Dr. **ANIMOUR. N** et Dr. **OULD ROUIS. Kh.**, responsables du laboratoire d'analyses médical, pour leur aide précieuse concernant la mise à disposition du matériel nécessaire. Leur disponibilité et leur sens de la collaboration ont grandement facilité le bon déroulement de notre travail pratique*

Nous remercions également les patientes qui ont accepté de nous permettre d'effectuer les prélèvements cliniques par leurs collaborations, ils ont grandement facilité notre recherche, et nous leurs adressons nos vœux de prompt

Rétablissement.

Merci



Dédicaces

Dieu merci, grâce auquel de bonnes actions sont faites. Ce travail est dédié à ceux qui ont éclairé mon chemin et m'ont soutenu tout au long de mon parcours.

*À ma chère mère **TAKARLI** Aziza, la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie qui apporté son appui durant toutes mes années d'étude, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance, courage et sécurité. Sans toi, je n'ai pas pu être ce que je suis et je ne saurais pu progresser et achever ce travail.*

*À mon père **Mohammed El amine**, aucune dédicace ne saurait exprimer l'estime et le respect que j'ai toujours en pour vous. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation, ma formation et mon bien être.*

*À mes frères **Yacine, Tarek, mohammed**, en témoignage de l'attachement, de l'amour et l'affection que je porte pour vous. Je vous porte dans mon cœur. Je vous remercie d'être l'épaule sur laquelle je peux m'appuyer. Je vous dédie ce modeste travail avec tous mes vœux de bonheurs, santé et de réussite.*

*À ma sœur **Wiam**, Les larmes me montent aux yeux en écrivant ces lignes... Merci pour ton amour inconditionnel, ta présence rassurante et ton soutien silencieux, mais si précieux. Que Dieu te protège, te comble de santé, de bonheur et t'accompagne dans chaque pas de ta vie.*

À toute ma famille maternelle et paternelle.

*À **yousra et yasser**, Avec qui j'ai eu la chance et le plaisir de travailler à fin d'achever mon cycle de master et mon cursus universitaire. On a passé des moments de joie, la tristesse et les différentes pressions, on a pris beaucoup de plaisir à réaliser ce travail.*

Je dédie ce travail à mes professeurs de musique andalouse, sources de motivation et d'inspiration, qui ont toujours cru en moi et m'ont poussée à me dépasser.

*Une pensée toute particulière à **BONZAR** mohammed Lamine, pour sa bienveillance, ses encouragements et sa confiance indéfectible.*

Que Dieu vous accorde santé, longue vie et réussite.

À toutes personnes qui m'ont aidé d'un mot, d'une idée ou d'un encouragement.

Insaf

Dédicaces

Au nom de Dieu le Clément, le Miséricordieux, Et que la paix et le salut soient sur le Prophète Mohamed, messenger de Dieu. Je voudrais dédier ce modeste travail :

À ma chère mère, DJEBAR Nacera, Toi qui as été la lumière dans mes nuits d'angoisse, le calme dans mes tempêtes, et la force derrière chacun de mes pas. Tu es le cœur battant de mes rêves, la douce voix qui a apaisé mes peurs, le regard bienveillant qui m'a redonné confiance lorsque je vacillais. Pour tous tes sacrifices silencieux, ton amour infini, chaque prière chuchotée, chaque larme retenue, chaque sourire offert. Ce mémoire t'appartient autant qu'à moi. C'est ton amour, pur et inconditionnel, qui m'a portée jusque-là.

À mon cher père, Mustapha, Aucune dédicace ne saurait traduire l'immense estime, le profond respect et l'amour infini que je te porte. Ce travail est le fruit de tes sacrifices, de ton labeur silencieux, de ton soutien infailible. Ta sagesse et ta patience ont tracé mon chemin et m'ont appris à ne jamais baisser les bras. Puisses-tu voir en ce mémoire un éclat de la fierté que je ressens d'être ta fille. Puisse Dieu te protéger, te combler de santé et te donner une longue vie. Que Dieu vous protège, vous comble de santé et vous accorde une longue vie.

Merci, mes parents... Vous êtes tout pour moi.

À mes sœurs, Lilia et Chanez, et à mon frère Hythem, Merci pour votre amour sincère, votre soutien fidèle et votre présence précieuse à chaque étape. Vous êtes ma force, mon refuge et mon inspiration.

À toute ma famille maternelle et paternelle, pour votre affection et vos encouragements, Merci.

À mes amies de cœur Ryhane, Fatma et Hanane, Complices de toujours, sœurs de cœur depuis 2015...Merci pour toutes ces années de souvenirs partagés, de fous rires, de larmes et de soutien. Votre amitié est un trésor que je chéris profondément.

À Insaf et Yasser, Avec qui j'ai eu le plaisir de partager ce parcours de Master. Merci pour les moments d'effort, de doute, de joie et de réussite vécus ensemble. Ce travail a pris tout son sens grâce à notre belle collaboration.

À tous mes collègues et amis de la promotion Master 2025 en Biochimie. Merci pour votre complicité, votre bienveillance et l'ambiance unique qui a marqué ces années.

Et à celui qui se reconnaîtra... Merci pour ta patience, ta douceur, ton écoute silencieuse et pour m'avoir apporté force et sérénité quand j'en avais le plus besoin.

Yousra

Dédicaces

Au nom d'Allah, que la paix et la bénédiction soient sur la plus honorable des créatures de Dieu

Je voudrais dédier ce modeste travail :

À mes chers parents, AZZOUNE Nabila et RAMOUL Fathi, depuis mon plus jeune âge, vous m'avez apporté soutien, appui et encouragement, et je n'aurais pas atteint ce que je suis sans la bénédiction de Dieu et votre soutien tout au long de ma carrière académique, et je présente ici ce travail avec reconnaissance, gratitude, appréciation et respect pour vous.

Je voudrais vous remercier tous les deux pour cela et j'espère que je pourrai vous rendre un peu la pareille pour la grande faveur que vous m'avez faite avec ce travail.

Je vous souhaite à tous deux une vie saine et une longue vie, et que Dieu vous protège et vous bénisse par sa santé et son bien-être.

À ma petite sœur, RAMOUL Rahma Israa, Je vous souhaite beaucoup de succès dans vos études et dans votre vie, que Dieu vous protège et prenne soin de vous.

À notre promotrice, Dr DJAIRENE Nassima, Je vous remercie beaucoup de m'avoir donné l'occasion de travailler avec vous et pour votre soutien, vos encouragements et votre accompagnement tout au long de l'année, avec vous nous avons surmonté les obstacles et les adversités grâce à votre expérience, votre patience, votre professionnalisme et votre gentillesse, merci et je vous souhaite beaucoup de succès.

À mes collègues ABDELBAKI Insaf et KHELIF Yousra, je vous remercie beaucoup d'avoir accepté de travailler avec vous en tant qu'équipe et pour votre respect, votre gentillesse et votre efficacité au travail, je n'oublierai jamais cette faveur, ce fut un beau voyage et je vous souhaite à tous beaucoup de succès et le meilleur dans vos vies.

Ce fut un plaisir de travailler avec vous et je vous souhaite une vie heureuse et une longue vie, que Dieu vous protège.

À tous les professeurs qui ont contribué à notre éducation, à notre orientation et à notre soutien tout au long des années passées à l'université, merci beaucoup pour tout ce que vous avez fait pour nous, j'ai beaucoup de respect pour vous et je vous souhaite santé, bien-être et succès dans votre travail.

Enfin, à tous mes chers collègues, étudiants de la promotion 2025 en biochimie, je vous souhaite réussite et succès pour chacun d'entre vous et vous remercie de m'avoir donné l'opportunité d'être le délégué de la promo pendant trois ans, j'espère avoir rempli mon devoir et m'excuse pour cette négligence, merci. À tous ceux qui ont contribué à la finalisation et à la réussite de ce travail, un grand merci du fond du cœur.

Yasser

Résumé

Ce travail contribue à la valorisation *in vitro* de la partie racinaire de *Glycyrrhiza glabra* L., plante médicinale largement utilisée dans la médecine traditionnelle.

Le screening phytochimique des molécules bioactives a révélé une abondance significative de composés phénoliques dans l'extrait éthanolique des racines de réglisse, notamment les phénols, les tanins, les saponines, les terpénoïdes, les alcaloïdes et les quinones libres.

L'étude antimicrobienne a révélé que l'extrait éthanolique des racines de réglisse possède un effet antimicrobien significatif contre les souches de référence testées, avec des zones d'inhibition comprises entre $19 \pm 0,3$ mm et $29 \pm 0,5$ mm.

La solution hygiénique formulée à partir de cet extrait a montré un potentiel antimicrobien sur la croissance des germes pathogènes à l'origine des infections du pied diabétique, avec des zones d'inhibition très importantes variant entre $13 \pm 0,3$ mm et $49 \pm 0,1$ mm.

En outre, la solution hygiénique a prouvé une efficacité anti biofilm contre les souches microbiennes *Staphylococcus aureus* cliniquement isolées.

L'étude de l'activité antiradicalaire par la méthode de réduction des radicaux libres (DPPH) a révélé une activité modérée pour l'extrait éthanolique, comparativement à l'acide ascorbique, avec un EC50 égal $133 \mu\text{g/ml}$ et $877 \mu\text{g/ml}$ respectivement.

Les résultats de cette étude suggèrent que les racines de la plante *Glycyrrhiza glabra* L. peuvent être considérées comme une source puissante de principes actifs utilisés intensivement dans l'industrie pharmaceutique.

Mots clés : *Glycyrrhiza glabra* L., Extrait éthanolique, Solution hygiénique, Ulcère du pied diabétique, *Staphylococcus aureus*.

Abstract

This work contributes to the in vitro valorization of the root part of *Glycyrrhiza glabra* L., a medicinal plant widely used in traditional medicine.

Phytochemical screening of bioactive molecules revealed a significant abundance of phenolic compounds in the ethanolic extract of licorice roots, including phenols, tannins, saponins, terpenoids, alkaloids and free quinones.

The antimicrobial study revealed that the ethanolic extract of licorice roots had a significant antimicrobial effect against the reference strains tested, with zones of inhibition ranging from 19 ± 0.3 mm to 29 ± 0.5 mm.

The hygienic solution formulated from this extract showed antimicrobial potential on the growth of pathogenic germs causing diabetic foot infections, with very significant zones of inhibition ranging from 13 ± 0.3 mm to 49 ± 0.1 mm.

In addition, the hygienic solution demonstrated antibiofilm efficacy against clinically isolated *Staphylococcus aureus* microbial strains.

Investigation of free radical scavenging activity by the DPPH method revealed moderate activity for the ethanolic extract, compared with ascorbic acid, with EC50 equal $133\text{ }\mu\text{g/ml}$ and $877\text{ }\mu\text{g/ml}$ respectively.

The results of this study suggest that the roots of the *Glycyrrhiza glabra* L. plant can be considered a potent source of active ingredients used extensively in the pharmaceutical industry.

Key words : *Glycyrrhiza glabra* L., Ethanolic extract, Hygienic solution, Diabetic foot ulcer, *Staphylococcus aureus*.

الملخص

يُسهّم هذا العمل في التقييم المخبري للجزء الجذري من جذر نبات عرق السوس *Glycyrrhiza glabra* L. وهو نبات طبي يستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي.

كشف الفحص الكيميائي النباتي للجزيئات النشطة بيولوجيًا عن وفرة كبيرة من المركبات الفينولية في المستخلص الإيثانولي لجذور عرق السوس، بما في ذلك الفينولات والعفص والصابونين والتربينويدات والقلويدات والكينونات الحرة.

كشفت الدراسة المضادة للميكروبات أن المستخلص الإيثانولي لجذور العرق سوس كان له تأثير كبير مضاد للميكروبات ضد السلالات المرجعية التي تم اختبارها، حيث تراوحت مناطق التثبيط بين 0.3 ± 19 مم إلى 0.5 ± 29 مم.

أظهر المحلول الصحي المصنوع من هذا المستخلص قدرة مضادة للميكروبات ضد نمو الجراثيم المسببة للأمراض المسببة لالتهابات القدم السكري، حيث تراوحت مناطق التثبيط الكبيرة جدًا بين 0.1 ± 49 مم إلى 0.3 ± 13 مم.

وبالإضافة إلى ذلك، أظهر المحلول الصحي فعالية مضادة للأغشية الحيوية ضد السلالات الميكروبية العنقودية الذهبية المعزولة سريريًا.

كشفت دراسة النشاط المضاد للجذور الحرة باستخدام طريقة اختزال الجذور الحرة (DPPH) عن نشاط معتدل للمستخلص الإيثانولي مقارنة بحمض الأسكوربيك، حيث كان تركيز EC_{50} يساوي 133 مغ/مل و 877 مغ/مل على التوالي.

تشير نتائج هذه الدراسة إلى أن جذور نبات *Glycyrrhiza glabra* L. يمكن اعتبارها مصدرًا قويًا للمكونات النشطة المستخدمة على نطاق واسع في صناعة الأدوية.

الكلمات المفتاحية: *Glycyrrhiza glabra* L.، مستخلص الإيثانوليك، محلول صحي، قرحة القدم السكرية، المكورات العنقودية الذهبية.

Liste des figures

Figure 1 : Différente partie de la plante <i>Glycyrrhiza glabra</i> L.	4
Figure 2 : Activités biologiques de <i>Glycyrrhiza glabra</i> L.....	6
Figure 3 : Etapes de la formation de biofilm.	11
Figure 4 : Mécanisme d'action antimicrobien.....	13
Figure 5 : Racines de <i>Glycyrrhiza glabra</i> L.....	16
Figure 6 : Organigramme de la démarche expérimentale	18
Figure 7 : Procédé de préparation de la poudre des racines de <i>Glycyrrhiza glabra</i> L	19
Figure 8 : Procédé d'extraction.	20
Figure 9 : Formation de la solution hygiénique.	24
Figure 10 : Contrôle microbiologique de la solution hygiénique.....	26
Figure 11 : Prélèvements cliniques (pus d'ulcère pied diabétique).	27
Figure 12 : Prélèvements cliniques	28
Figure 13 : Isolement des <i>Staphylococcus aureus</i>	29
Figure 14 : Méthode de diffusion radiale par puits.	31
Figure 15 : Formation du biofilm sur microplaque (La méthode de TCP)	35
Figure 16 : Qualité microbiologique de la solution hygiénique	44
Figure 17 : Répartition selon le sexe	45
Figure 18 : Répartition des patients selon la tranche d'âge.....	45
Figure 19 : Répartition selon les patients porteurs de <i>staphylococcus aureus</i>	46
Figure 20 : Répartition selon le type de prélèvement.....	46
Figure 21 : Répartition selon le type de diabète.....	47
Figure 22: Activité antimicrobienne de l'extrait éthanolique de <i>Glycyrrhiza glabra</i> L.....	49
Figure 23 : Sensibilité des souches <i>Staphylococcus aureus</i>	53

Figure 24 : Evaluation de la production de biofilm « <i>Staphylococcus aureus</i> » par la méthode TCP	57
Figure 25 : Réduction de biofilm de <i>Staphylococcus aureus</i>	58
Figure 26 : Résultats de l'activité antioxydante	61
Figure 27 : Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de l'extrait éthanolique des racines de <i>Glycyrrhiza glabra</i> L.	62
Figure 28 : Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de la vitamine C	62
Figure 29 : Evaporateur rotatif	Anx 1
Figure 30 : Vitamine c	Anx 1
Figure 31 : Antibiotiques GEN et P	Anx 1
Figure 32 : Microscope optique binoculaire de marque OPTIKA	Anx 1
Figure 33 : Bain marie.....	Anx 1
Figure 34 : Etuve de marque FAITHFUL	Anx 1
Figure 35 : Autoclave	Anx 1
Figure 36 : Spectrophotomètre UV-Visible	Anx 1
Figure 37 : Milieu MH	Anx 1
Figure 38 : Milieu chapman	Anx 1
Figure 39 : Milieu GN	Anx 1
Figure 40 : Milieu BHIB	Anx 1
Figure 41 : Milieu TSE.....	Anx 1
Figure 42 : Différentes parties aériennes du la plante <i>Glycyrrhiza glabra</i> L.	Anx 2
Figure 43 : Extrait éthanolique et extrait sec de <i>Glycyrrhiza glabra</i> L.....	Anx 3
Figure 44 : Etapes de la coloration de gram.....	Anx 7
Figure 45 : Résultats de la coloration de gram.....	Anx 7

Figure 46 : Résultats de teste oxydase	Anx 7
Figure 47 : Résultats de teste catalase	Anx 7
Figure 48 : Teste de coagulase sur lame	Anx 7
Figure 49 : Résultats de teste coagulase.....	Anx 7
Figure 50: Table de lecture des valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour <i>staphylococcus spp</i>	Anx 8
Figure 51 : Réisolement des souches bactériennes de référence (ATCC) sur milieu GN solide	Anx 8
Figure 52: Résultats de la CMI sur la microplaque pour les <i>staphylococcus aureus</i>	Anx 10
Figure 53 : Résultats de la CMB sur la microplaque pour les <i>staphylococcus aureus</i>	Anx 10
Figure 54 : Résultats de teste biofilm pour les <i>staphylococcus aureus</i>	Anx 10
Figure 55 : Résultats de teste antibiofilm pour les <i>staphylococcus aureus</i>	Anx 10

Liste des tableaux

Tableau I : Profil phytochimique de <i>Glycyrrhiza glabra</i> L	5
Tableau II : Propriétés pharmacologiques et intérêts thérapeutiques	7
Tableau III : Souches microbiennes de référence (ATCC)	17
Tableau IV: Composition de la solution antiseptique à base d'extrait de <i>Glycyrrhiza glabra</i> L.....	24
Tableau V : Caractérisation des espèces bactériennes isolées.....	29
Tableau VI : Antibiotiques testés vis-à-vis de <i>Staphylococcus aureus</i>	32
Tableau VII : Rendement de l'extrait éthanolique par rapport à la matière végétale	39
Tableau VIII : Aspect, couleur et odeur de l'extrait éthanolique de <i>Glycyrrhiza glabra</i> L.....	40
Tableau IX : Caractérisation phytochimique des substances bioactives des racines de <i>Glycyrrhiza glabra</i> L.....	41
Tableau X : Caractéristiques organoleptiques et chimiques de la solution hygiénique.	43
Tableau XI : Qualité microbiologique de la solution hygiénique	44
Tableau XII : Caractéristiques biochimiques des bactéries isolées d'ulcère du pied diabétique.....	47
Tableau XIII : Diamètres des zones d'inhibition des souches (ATCC).	49
Tableau XIV : Diamètre des zones d'inhibition des germes pathogènes.....	52
Tableaux XV : Concentration minimale inhibitrice (CMI) et profil Bactéricide /bactériostatique	55
Tableau XVI : Résultats du test de mesure du pourcentage d'inhibitions du radical DPPH	60
Tableau XVII : Matériel utilisé.....	Anx 1
Tableau XVIII : Rendement d'extraction	Anx 3
Tableau XIX : Résultats des tests phytochimique.....	Anx 4
Tableau XX : L'écart type des résultats de test d'aromatogramme.....	Anx 9

Tableau XXI : Résultats du test de DPPH (les densités optiques).....	Anx 11
---	---------------

Liste des abréviations

AA : Activité antioxydante

ABTS : 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)

AFNOR : Association française de normalisation

AND : Acide désoxyribonucléique

AOMI : Artériopathie de membranes inférieures

ATCC : American Type Culture Collection

BHIB : Brain Heart Infusion Broth

CI50 : Concentration de l'échantillon fournissant 50% d'inhibition

CLSI : Clinical and Laboratory Standards Institute

CMB : Concentration Minimale Bactéricide

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

DPPH : 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl

EC50 : Efficient concentration 50

EPS : Exopolysaccharide

FRAP : Ferric Reducing Antioxidant Power

GC-MS : Gas Chromatography-Mass Spectrometry

GEN : Gentamicine

GN : Gélose nutritif

Gram- : Gramme négatif

Gram+ : Gramme positif

GTase : Glucosyltransférase

HPLC : High Performance Liquid Chromatography

IPD : Infection du pied diabétique

IWGDF : International working group on diabetic foot

IPA : Institut Pasteur d'Algérie

MAPK : Mitogen-Activated Protein Kinase

MF : Mc-Farland

MH : Müller Hinton

NAT : N-acétyltransférase aromatique

NF- κ B : Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells

OH : Hydroxyle

OMS : Organisation mondiale de la santé

ORAC : Oxygen Radical Absorbance Capacit

P : Pénicilline

pH : Potentiel d'hydrogène

PI3K/Akt : Phosphoinositide 3-Kinase / Protein Kinase B (Akt)

TCP : Technique de tissu en plaque

TPS : Tampon phosphate salin

UV-Vis : Ultra-violet visible

VRBL : Lactose biliée au cristal violet et rouge neutre

Glossaire

- **Neuropathie diabétique** : est une atteinte des nerfs causée par un diabète mal contrôlé, qui se manifeste par une perte de sensibilité, des douleurs, des picotements ou une faiblesse, surtout au niveau des pieds et des mains.
- **L'ischémie** : est un manque d'apport sanguin suffisant à un tissu, généralement dû à une obstruction ou une réduction du débit sanguin dans une artère, ce qui prive les cellules en oxygène et nutriments essentiels à leur survie.
- **L'artériopathie des membres inférieurs** : est une maladie chronique des artères caractérisée par un rétrécissement ou un blocage des artères des jambes, généralement causé par l'athérosclérose. Elle entraîne une diminution de l'apport sanguin vers les membres inférieurs, pouvant provoquer des douleurs à la marche (claudication intermittente), des plaies qui cicatrisent mal, voire des amputations dans les cas graves.
- **Médiacalcosse** : est une calcification de la paroi moyenne (média) des artères, caractérisée par un dépôt de phosphate de calcium sous forme de cristaux d'hydroxyapatite dans les cellules musculaires lisses de l'artère. Elle entraîne une rigidification des vaisseaux sans obstruction du flux sanguin, contrairement à l'athérosclérose. Elle est surtout associée au diabète, à l'insuffisance rénale chronique et au vieillissement.
- **Pied de charcot** : ou neuro-ostéarthropathie diabétique, est une complication sévère liée à une neuropathie périphérique. Elle se caractérise par une déminéralisation osseuse, des fractures spontanées et des déformations articulaires du pied, en l'absence de douleur, conduisant souvent à un effondrement du squelette plantaire et à un risque majeur d'ulcération et d'amputation.
- **Ostéite** : est définie comme une infection qui s'est étendue à l'os. Il s'agit souvent d'une infection chronique, difficile à traiter en raison d'une circulation sanguine réduite au niveau de l'os, aggravée par l'artériopathie des membres inférieurs.
- **Ulcération** : est une perte de substance profonde de la peau ou des muqueuses, atteignant les couches sous-jacentes comme le derme, et nécessitant souvent des soins spécifiques pour cicatriser.

- **Phase planctonique** : désigne l'état libre et mobile des bactéries dans un milieu liquide, avant leur adhésion à une surface.

Table de matière

Remerciement

Dédicaces

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Glossaire

Introduction..... 1

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1. Présentation de l'espèce *Glycyrrhiza glabra* L..... 3

I.1.1. Nomenclature..... 3

I.1.2. Classification de genre *Glycyrrhiza*..... 3

I.1.3. Description botanique de *Glycyrrhiza glabra* L.4

I.1.4. Origine et répartition géographique 4

I.1.5. Profil phytochimique..... 4

I.1.6 Propriétés pharmacologiques et intérêts thérapeutiques 6

I.2. Définition du pied diabétique9

I.2.1. Définition de l'infection du pied diabétique9

I.2.2. Physiopathologie..... 9

I.2.3. Infection du pied diabétique10

I.2.3.1. Agent étiologique incriminé dans les infections du pied diabétique « *Staphylococcus aureus* » et notion de biofilms.....10

I.2.3.2. Résistance aux antibiotiques dans les infections du pied diabétique	12
I.2.4. Prise en charge et soin d'ulcère du pied diabétique	12
I.3. Mécanisme d'action des molécules bioactives	12
I.3.1. Activité antimicrobienne.....	12
I.3.2. Potentiel antioxydant	14

Chapitre II : Matériel et Méthodes

II.1. Lieux des expérimentations	15
II.2. Matériel biologique	16
II.2.1. Matériel végétal.....	16
II.2.1.1. Présentation du site de récolte	17
II.2.2. Souches microbiennes	17
II.2.3. Population humaine étudiée	17
II.3. Matériel non biologique.....	17
II.4. Méthodes	18
II.4.1. Préparation de l'extrait	18
II.4.2. Cinétique d'extraction et rendement.....	19
II.4.3. Calcul du rendement	20
II.4.4. Screening phytochimique	21
II.4.5. Screening pharmacologique.....	23
II.4.5.1. Elaboration d'une solution hygiénique antiseptique	23

II.4.5.1. Etude clinique des malades atteints des infections du pied diabétique.....	27
II.4.5.3.Evaluation de l'activité antimicrobienne <i>in vitro</i>	28
II.4.5.4.Activité antioxydante <i>in vitro</i>	36
II.4.6. Etude statistique.....	37

Chapitre III : Résultats et Discussion

III.1. Résultats du rendement	39
III.2. Résultats du screening phytochimique.....	41
III.3. Résultats du screening pharmacologique	43
III.3.1. Etude analytique de solution hygiénique.....	43
III.3.2. Contrôle de qualité microbiologique de la solution hygiénique.....	43
III.3.3. Résultats de l'étude clinique	44
III.3.4. Résultats de l'activité antibactérienne.....	48
III.3.5. Résultats de la concentration minimal inhibitrice bactéricide et bactériostatique (CMI/CMB)	54
III.3.6. Résultats de l'antibiofilm	56
III.3.6.1. Résultats de la formation de biofilm par la technique de TCP.....	56
III.3.6.2. Evaluation de l'activité antibiofilm sur milieu liquide	58
III.4. Résultats de l'activité antioxydante	60
Conclusion.....	64

Références Bibliographiques

Annexes



Introduction



Introduction

Le diabète est un véritable problème de santé publique et se présente comme l'une des maladies les plus graves associées par les infections du pied (IPD). Cette infection entraîne parfois des hospitalisations prolongées, un risque d'amputation accru et un rôle crucial dans la mortalité (**Wukich *et al.*, 2013 ; Khomri *et al.*, 2024**) . Par ailleurs, elle altère gravement la qualité de vie par ses douleurs, son anxiété, sa dépression et son isolement social.(**Senneville *et al.*, 2024**).

La réglisse, connue sous le nom *Glycyrrhiza glabra* L. désigne une plante vivace de la famille des *Fabacées* que l'on trouve en Eurasie, notamment au sud de l'Europe et en Asie Centrale où elle est particulièrement répandue en Iran. C'est une plante médicinale particulièrement connue, dont l'emploi s'étend à l'alimentaire et à la pharmacie. Elle est aussi dotée de qualités quasi miraculeuses grâce à certaines de ses substances comme l'acide glycyrrhizique, la glabridine, la liquiritine et la liquiritigénine qui possèdent diverses propriétés pharmacologiques : antioxydantes, anti-inflammatoires, antivirales, hépato-protectrices et effets antiproliférateurs (**Esmacili *et al.*, 2019**).

A partir de là, et à la lumière de ce qui précède et face à l'augmentation des infections du pied diabétique causée par des pathogènes résistants comme *Staphylococcus aureus*, comment exploiter les propriétés bioactives de *Glycyrrhiza glabra* L, pour développer une solution hygiénique efficace ?

L'objectif de la présente étude est de valoriser les racines de *Glycyrrhiza glabra* L. en tant que produit de soin pour les infections et d'étudier leur potentiel dans le maintien de l'hygiène des pieds diabétiques :

- Extraction, caractérisation phytochimique, et étude de l'activité biologique et pharmacologique des molécules bioactives des racines de *Glycyrrhiza glabra* L.
- Étude *in vitro* des activités biologiques de l'extrait éthanolique de *Glycyrrhiza glabra* L., incluant l'activité antimicrobienne, le potentiel anti biofilm et le pouvoir antioxydant.

Introduction

Le manuscrit est scindé sur trois grands chapitres : le premier chapitre représente une synthèse bibliographique qui porte sur la description de la plante *Glycyrrhiza glabra* L., l'infection du pied diabétique ,le mode d'action des biomolécules ; le deuxième chapitre est consacré à l'expérimentation appliquée, décrivant le matériel végétal, la méthode d'extraction, le screening phytochimique et les méthodes d'évaluation des activités biologiques et pharmacologiques ; et le dernier chapitre comprend les résultats et discussion relatifs aux différents tests pratiqués. En fin, une conclusion générale basée sur l'ensemble des résultats obtenus et chimiques et pharmaceutiques de la recherche.



Chapitre I

Synthèse Bibliographique



I.1. Présentation de l'espèce *Glycyrrhiza glabra* L.

Glycyrrhiza glabra L. est le nom scientifique de la réglisse. Il s'agit d'une plante vivace de la famille des *fabacées* (Bahmani *et al.*, 2015). Son nom provient des mots grecs glykys, qui signifie doux et rhiza, qui signifie racine (Bisht *et al.*, 2022). Tandis que le nom de l'espèce *glabra* fait référence aux enveloppes lisses et provient du mot latino glaber, qui signifie nu ou lisse (Batiha *et al.*, 2020), *Glycyrrhiza glabra* L. prospère dans les climats subtropicaux, sur des sols fertiles, profonds et bien drainés et nécessite une exposition au soleil (Omar *et al.*, 2012).

I.1.1. Nomenclature

Etymologiquement, l'existence du nom *Glycyrrhiza* dans différentes cultures lui confère plusieurs noms vernaculaires (Esmail Al-Snafi, 2018).

- **Nom Botanique :** *Glycyrrhiza glabra* L.
- **Arabe :** Irq al-sūs, عرق السوس
- **Anglais :** Licorice, Licorice-root, Liquorice
- **Français :** Réglisse
- **Italien :** Liquirizia

I.1.2. Classification du genre *Glycyrrhiza*

D'après l'étude de Bashir (2019), *Glycyrrhiza glabra* L. est classée scientifiquement comme suit :

- **Règne :** Plantae
- **Sous-règne :** Tracheobionta
- **Super division :** Spermatophyta
- **Division :** Magnoliophyta
- **Classe :** Magnoliopsida
- **Sous-classe :** Rosidae
- **Ordre :** Fabales
- **Famille :** Fabacea
- **Genre :** *Glycyrrhiza*
- **Espèce :** *Glycyrrhiza glabra*

I.1.3. Description botanique de *Glycyrrhiza glabra* L.

Il existe plus de 30 espèces du genre *Glycyrrhiza* largement répandues dans le monde entier (**Rizzato et al., 2017**). *Glycyrrhiza glabra* L. est une plante vivace herbacée pouvant mesurer jusqu'à 1 m. Ses feuilles pennées font 7 à 15 cm de long. Ses fleurs, pourpres ou bleu pâle, sont hermaphrodites et regroupées en inflorescences. Son fruit est une gousse oblongue de 2 à 3 cm contenant plusieurs graines (**Pastorino et al., 2018**).

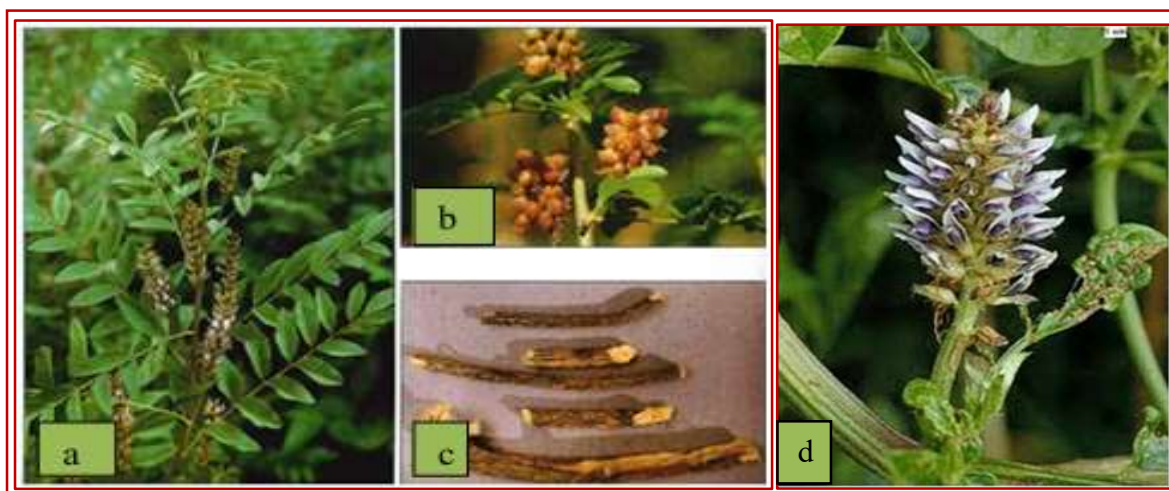


Figure 1 : Différente partie de la plante *Glycyrrhiza glabra* L. (Dastagir et Rizvi, 2016).

a : Feuille ; b : Fruit ; c : Racine ; d : Fleur

I.1.4. Origine et répartition géographique

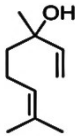
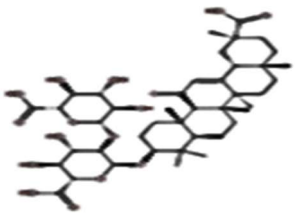
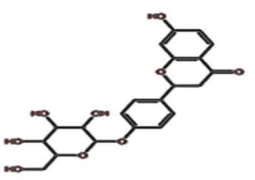
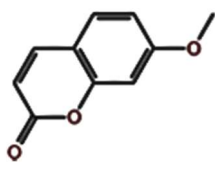
Glycyrrhiza glabra L. est une plante méditerranéenne largement cultivée en Asie du Sud-Est. Elle se développe entre les latitudes 30° et 45° nord, s'étendant du sud de l'Europe jusqu'à l'Asie centrale. Parmi les principaux pays l'Iran, le Pakistan, l'Afghanistan, l'Irak, la Chine, le Turkménistan, l'Azerbaïdjan, l'Ouzbékistan et la Turquie. Cette plante est également cultivée à grande échelle en Angleterre, en Belgique, en France, en Grèce, en Italie et en Allemagne. En Iran, elle se trouve dans différentes régions, notamment à l'est, à l'ouest et au centre du pays (**Bahmani et al., 2015**).

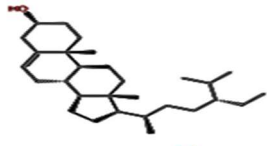
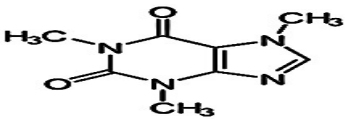
I.1.5. Profil phytochimique

La réglisse est utilisée depuis l'antiquité pour ses vertus médicinales et culinaires. Aujourd'hui, ses bienfaits sont confirmés par les recherches scientifiques qui s'intéressent à

ses différents principes actifs. Le tableau suivant résume les principaux composés bioactifs identifiés dans la réglisse (**Tableau I**).

Tableau I : Profil phytochimique de *Glycyrrhiza glabra* L.

Classe de Métabolites	Principaux composés	Structure chimique
Métabolites Primaires	Protéines, pectine, lipides, sels minéraux (Husain et Ahmad, 2015 ; Esmail Al-Snafi, 2018).	
Composants volatiles naturels	Huiles essentielles : Linalool, eugénol, anéthole (Chouitah <i>et al.</i> , 2011 ; Esmail Al-Snafi, 2018).	 Linalool
Métabolites secondaires	Saponines triterpéniques : Acide glycyrrhizique (glycyrrhizine), acide liquiritique, glycyrrétole, glabrolide (Isbrucker et Burdock, 2006; Esmail Al-Snafi, 2018; Pastorino <i>et al.</i> , 2018).	 Acide glycyrrhizique (Rasool et Dar, 2025)
	Flavonoides et chalcones : Liquiritine, liquiritigénine, isoliquiritigénine, glabridine, formononétine (Asl et Hosseinzadeh, 2008 ; Husain et Ahmad, 2015 ; Esmail Al-Snafi, 2018).	 Liquiritine, liquiritigénine (Rasool et Dar, 2025)
	Composés phénoliques : Tanins, coumarines (herniarine, ombelliférone) (Asl et Hosseinzadeh, 2008 ; Husain et Ahmad, 2015 ; Esmail Al-Snafi, 2018).	 Coumarines (Rasool et Dar, 2025)

Métabolites secondaires	Stérols et stéroïdes : Bêta-sitostérol, stigmasterol (Husain et Ahmad, 2015 ; Esmail Al-Snafi, 2018).	 Bêta-sitostérol. (Rasool et Dar, 2025)
	Alcaloïdes et glycosides : Divers composés bioactifs (Husain et Ahmad, 2015 ; Esmail Al-Snafi, 2018).	 La caféine (Alcaloïdes)

I.1.6. Propriétés pharmacologiques et intérêts thérapeutiques

Des investigations biologiques et pharmacologiques de *Glycyrrhiza glabra* L. ont été rapportées par plusieurs chercheurs révélant plusieurs activités biologiques (Figure 2).

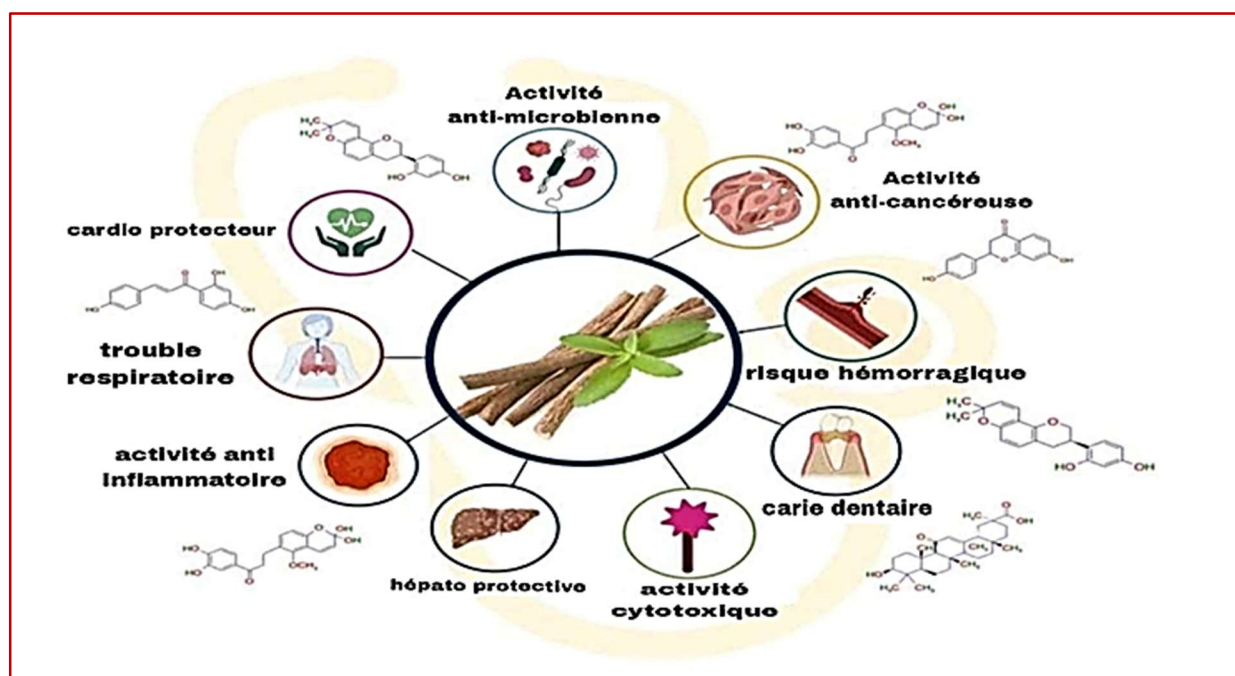


Figure 2 : Activités biologiques de *Glycyrrhiza glabra* L.
 (Wahab *et al.*, 2021).

Tableau II : Propriétés pharmacologiques et intérêts thérapeutiques.

Activité pharmacologique	Molécules bioactives	Intérêt thérapeutique	Références bibliographiques
Antioxydante	Glycyrrhizine, Glabridine, Liquiritigénine, Isoliquiritigénine, Hérniarine, Ombelliférone, Bêta-sitostérol, Stigmasterol	Prévention du stress oxydatif et des maladies neurodégénératives (Alzheimer, Parkinson)	(Hasanein, 2011 ; Kumar et Dora, 2017 ; Rasool et Dar, 2025 ; Vijapur <i>et al.</i> , 2025)
Anti-inflammatoire	Glycyrrhizine, Acide glycyrrhizique, Alpha-terpinéol, Saponines triterpéniques	Traitement des maladies inflammatoires chroniques (arthrite, maladies auto-immunes)	(Hasanein, 2011 ; Kumar et Dora, 2017 ; Rasool et Dar, 2025 ; Vijapur <i>et al.</i> , 2025)
Antidiabétique	Glycyrrhizine, Acide glycyrrhizique, Glabridine, Saponines	Régulation du métabolisme glucidique, amélioration de la sensibilité à l'insuline	(Hasanein, 2011 ; Kumar et Dora, 2017 ; Rasool et Dar, 2025 ; Vijapur <i>et al.</i> , 2025)
Antimicrobienne	Licochalcone A, Alpha-terpinéol, Hérniarine, Ombelliférone, Furfuraldéhyde	Traitement des Infections bactériennes et fongiques, prise en charge des Infections du pied Diabétique	(Hasanein, 2011 ; Kumar et Dora, 2017 ; Rasool et Dar, 2025 ; Vijapur <i>et al.</i> , 2025)
Cicatrisante	Glycyrrhizine, saponines, Alpha terpinéol	Accélération de la cicatrisation des plaies, traitements des ulcères cutanés	(Hasanein, 2011 ; Kumar et Dora, 2017 ; Rasool et Dar, 2025 ; Vijapur <i>et al.</i> , 2025)

Neuroprotectrice	Glabridine, isoliquiritigénine, isoliquiritigénine	Prévention des maladies neurodégénératives, amélioration des fonctions cognitives	(Hasanein, 2011 ; Kumar et Dora, 2017 ; Rasool et Dar, 2025 ; Vijapur <i>et al.</i> , 2025)
Hépatoprotectrice	Glycyrrhizine, acide glycyrrhizique, Bêta-sitostérol	Protection du foie contre les toxines et les hépatites virales	(Hasanein, 2011 ; Kumar et Dora, 2017 ; Rasool et Dar, 2025 ; Vijapur <i>et al.</i> , 2025).
Hypocholestérolémiant et Cardioprotectrice	Bêta-sitostérol, Stigmastérol	Réduction du risque cardiovasculaire, prévention de l'athérosclérose	(Hasanein, 2011 ; Kumar et Dora, 2017 ; Rasool et Dar, 2025 ; Vijapur <i>et al.</i> , 2025).
Antiulcéreuse	Glycyrrhizine, acide glycyrrhizique	Protection de la muqueuse gastrique, inhibition d' <i>Helicobacter pylori</i>	(Hasanein, 2011 ; Kumar et Dora, 2017 ; Rasool et Dar, 2025 ; Vijapur <i>et al.</i> , 2025).
Antithrombotique	Glycyrrhizine, isoliquiritigénine	Prévention de la formation de caillots sanguins	(Hasanein, 2011 ; Kumar et Dora, 2017 ; Rasool et Dar, 2025 ; Vijapur <i>et al.</i> , 2025).
Antitumorale	Glycyrrhizine, Isoliquiritigénine	Inhibition de la prolifération tumorale, réduction des effets secondaires de la chimiothérapie	(Hasanein, 2011 ; Kumar et Dora, 2017 ; Rasool et Dar, 2025 ; Vijapur <i>et al.</i> , 2025).

I.2. Définition du pied diabétique

Selon le Consensus international (IWGDF - International Working Group on Diabetic Foot) de 2007 définit le pied diabétique comme une infection, ulcération ou destruction des tissus profonds du pied, associée à une neuropathie et/ou un artériopathie périphérique des membres inférieurs chez le diabétique. On regroupe sous le terme « pied diabétique » l'ensemble des manifestations pathologiques atteignant le pied et directement en rapport avec la maladie diabétique sous-jacente (**Mathieu, 2014**).

I.2.1. Définition de l'infection du pied diabétique

L'infection du pied diabétique (IPD) représente une complication sérieuse chez les individus souffrant de diabète sucré (**Wukich *et al.*, 2013**).

L'infection du pied diabétique est caractérisée comme une infection affectant les tissus mous et/ou les structures osseuses du pied chez un individu atteint de diabète, généralement due à une plaie infectée chronique, qui est exacerbée par la neuropathie et l'ischémie (**Pitocco *et al.*, 2019**).

I.2.2. Physiopathologie

Le pied diabétique, une complication grave du diabète chronique, est surtout causée par des atteintes nerveuses (neuropathie) liées à une hyperglycémie prolongée. Cette neuropathie provoque une perte de sensation, des déformations du pied et un dessèchement de la peau, ce qui favorise l'apparition de plaies indolores, souvent cachées sous des zones de peau épaissies, appelées : mal perforant plantaire (**Sultan *et al.*, 2024**). En plus, la circulation sanguine est souvent diminuée à cause d'une artériopathie des membres inférieurs (AOMI), parfois silencieuse, mais aggravée par une médiacalcosse, ce qui ralentit la cicatrisation et augmente le risque d'ischémie et de complications cardiovasculaires. L'ensemble de ces troubles associé à une immunité affaiblie (**Bader, 2008**), expose les patients à des infections graves qui peuvent évoluer rapidement vers des atteintes osseuses, comme le pied de Charcot, et mener à une amputation. La neuropathie reste au cœur de ce processus complexe (**Perrier *et al.*, 2016 ; Sultan *et al.*, 2024**).

I.2.3. Infection du pied diabétique

Les infections du pied diabétique, fréquentes et graves, résultent de la colonisation des ulcères par des agents pathogènes en cas de baisse des défenses immunitaires. Non traitées, elles peuvent atteindre les tissus profonds et entraîner jusqu'à 50 % de risque d'amputation. Environ 60 % des ulcères infectés conduisent à une perte de membre, représentant une cause majeure d'hospitalisation et de morbidité chez les diabétiques (Noor *et al.*, 2015).

I.2.3.1. Agent étiologique incriminé dans les infections du pied diabétique

Les infections du pied diabétique sont souvent d'origine microbienne complexe, avec des cas mono- ou polymicrobiens. Les pathogènes les plus fréquents sont *Staphylococcus aureus* (38,4–41%), *Pseudomonas aeruginosa* (17,5–35%), *Proteus mirabilis* (2–18%) et *Bacteroides fragilis* (10,5%) (Abdulrazak *et al.*, 2005 ; Sugandhi et ArvindPrasanth, 2014). Les bactéries à Gram positif comprennent principalement *S. aureus*, *Enterococcus faecalis* et *Streptococcus spp.*, tandis que les Gram négatif incluent *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *P. mirabilis* et *P. aeruginosa*.

- *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus, également connu sous le nom de staphylocoque doré, est une bactérie Gram positive, de forme cocci, à catalase et coagulase positive, découverte en 1880 par Alexander Ogston (Larkin *et al.*, 2009 ; Gherardi, 2023). Elle se présente typiquement sous microscope optique sous forme de grappes de raisin, immobile, non sporulée et peut survivre en conditions aérobies et anaérobies facultatives (Walana *et al.*, 2020). Son habitat naturel est l'homme et l'animal, en particulier sur la peau et les muqueuses externes, notamment nasales (Gherardi, 2023). Les cellules de *S. aureus* sont sphériques, mesurant entre 0,5 et 1,5 µm de diamètre (Sato *et al.*, 2019). Il s'agit d'un agent majeur d'infections cutanées, pouvant entraîner, dans les cas graves, une bactériémie (Guo *et al.*, 2024). Ces infections, souvent difficiles à traiter en raison de la résistance aux antimicrobiens, sont associées à un taux de mortalité avoisinant les 20 % (Guo *et al.*, 2024) et font de *S. aureus* un pathogène couramment impliqué dans les infections pied diabétique (Dunyach-Remy *et al.*, 2016).

- **Notion de Biofilm**

Les biofilms sont des agrégats de cellules entourées d'une matrice polymérique extracellulaire (**Donlan et Costerton, 2002**). Cette dernière, composée de polysaccharides, d'ADN et de diverses macromolécules, varie selon les espèces et l'environnement. Elle assure la cohésion, la protection et l'adaptation du biofilm (**Harper *et al.*, 2014**).

Le biofilm peut se limiter à un réservoir bactérien, mais il peut aussi avoir un rôle actif en favorisant une inflammation chronique ou en induisant des lésions tissulaires (**Vestby *et al.*, 2020**).

La formation du biofilm suit un processus en plusieurs étapes (**Figure 3**) : débutant par une adhésion réversible des bactéries libres à la surface, suivie d'une adhésion irréversible et de la production progressive de la matrice EPS. Le biofilm entre ensuite dans une phase de maturation, caractérisée par l'émergence de structures tridimensionnelles par courues de canaux de circulation, avant de se disperser pour coloniser d'autres surfaces. Ces biofilms peuvent se développer sur une grande variété de supports, notamment les dispositifs médicaux tels que les cathéters, implants ou lentilles de contact, ainsi que sur les tissus biologiques comme les muqueuses, la peau ou les dents, rendant leur élimination particulièrement complexe en milieu clinique (**Zhao *et al.*, 2023**).

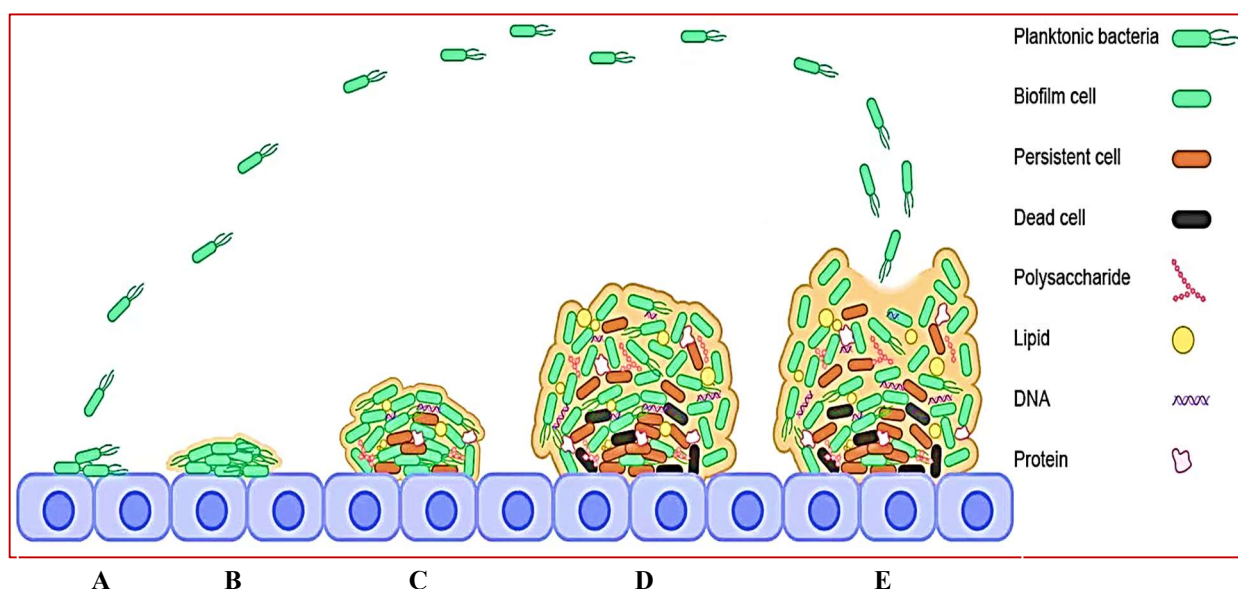


Figure 3 : Etapes de la formation de biofilm (Zhao *et al.*, 2023).

A : adhésion réversible ; **B** : Adhésion irréversible ; **C** : La production progressive de la matrice EPS ;
D : Maturation ; **E** : Phase de dispersion

I.2.3.2. Résistance aux antibiotiques dans les infections du pied diabétique

La résistance aux antimicrobiens est reconnue comme une menace majeure pour la santé publique, principalement due à l'usage excessif et inapproprié des antibiotiques (**Kandemir et al., 2007**). Chez les patients diabétiques atteints d'ulcères du pied, plusieurs facteurs favorisent la colonisation par des micro-organismes multirésistants. Parmi les agents pathogènes fréquemment isolés dans ces infections figurent *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* (**Du et al., 2022 ; Moya-Salazar et al., 2023 ; Coşkun et al., 2024**).

La menace croissante de la résistance aux antibiotiques rend les traitements conventionnels de plus en plus inefficaces dans les infections du pied diabétique (**Nazari et al., 2025**). Par ailleurs, *Staphylococcus aureus* semble développer plus rapidement une résistance aux antibiotiques chez des sujets diabétiques que chez des sujets non diabétiques, ce qui suggère une influence du contexte métabolique sur la dynamique de résistance (**Shook et al., 2025**).

I.2.4. Prise en charge et soin d'ulcère du pied diabétique

Aujourd'hui, les soins reposent sur les mêmes bases : nettoyage local de la plaie avec débridement, pansements maintenant un milieu humide, décharge de la zone lésée, bilan vasculaire, traitement des infections actives et régulation de la glycémie (**Lipsky et al., 2012 ; Lavery et al., 2016 ; Bakker et al., 2016**).

I.3. Mécanisme d'action des molécules bioactives

I.3.1. Activité antimicrobienne

Plusieurs auteurs ont montré que *Glycyrrhiza glabra* L. possède des propriétés antimicrobiennes, notamment contre des bactéries Gram-positives tel que *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* et Gram-négatives comme *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* (**Gupta et al., 2008 ; Wang et al., 2015**). L'activité antibactérienne observée est

due à la présence de métabolites secondaires, à savoir des saponines, des alcaloïdes et des flavonoïdes (Fukui *et al.*, 1988 ; Wang *et al.*, 2015).

Selon Chen *et al.*, (2024), la Glycyrrhizine est un composé appartenant à la famille des saponines, agit contre plusieurs bactéries résistantes aux antibiotiques, les mécanismes d'action suivant :

- Bloque l'enzyme N-acétyltransférase aromatique (NAT) chez *Klebsiella pneumoniae* et *Helicobacter pylori*. Cela réduit la résistance de *H. pylori* à la clarithromycine.
- Modifie la membrane bactérienne, permettant l'entrée de protons ou perturbant les échanges, ce qui affaiblit les cellules bactériennes.
- Les enzymes liées à la production d'énergie, freinant ainsi la croissance des bactéries et leur capacité à produire des acides.
- Empêche les bactéries de s'attacher aux supports en inhibant l'enzyme Glucosyltransférase (GTase), essentielle à la formation de plaques dentaires.
- Réduire l'activité des pompes d'efflux chez *P. aeruginosa*, ce qui permet aux antibiotiques de rester plus longtemps dans la cellule bactérienne et augmente leur efficacité **Figure 4**.

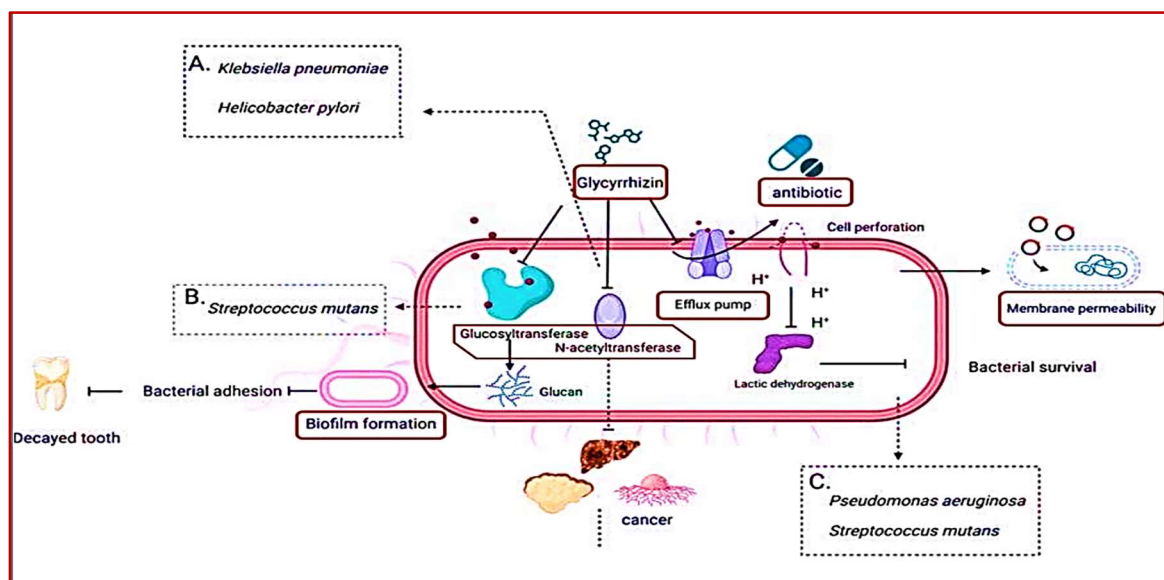


Figure 4 : Mécanisme d'action antimicrobien (Chen *et al.*,2024).

A : Effet de la glycyrrhizine sur l'activité NAT des bactéries *in vivo* ; **B :** effet de la glycyrrhizine sur la formation de biofilms ; **C :** effet de la glycyrrhizine sur la perméabilité de la membrane cellulaire bactérienne

I.3.2. Potentiel antioxydant

Les antioxydants sont des substances capables de donner un électron aux radicaux libres pour les rendre inoffensifs et diminuer leurs effets nocifs (**Tumilaar *et al.*, 2023**). Parmi ces substances : les composés phénoliques et les flavonoïdes. L'activité antioxydante des rhizomes (tiges souterraine horizontale) et racines de *Glycyrrhiza glabra* L. est liée à la présence de divers composés comme les flavonoïdes (dérivés de l'apigénine, de la liquiritine, des isoflavones méthylées et des chalcones), les saponines, les coumarines. Ces substances, notamment les licochalcones A, B, C, D, l'échinatine, la glabridine, les hispaglabridines A et B et la 4'-O-méthylglabridine, présentent une forte activité antioxydante. Elles inhibent principalement la peroxydation lipidique, captent les radicaux libres et possèdent un pouvoir réducteur, contribuant à prévenir les dommages oxydatifs (**Kim *et al.*, 2008 ; Tohma et Gulçin, 2010 ; Martins *et al.*, 2015 ; Esmaili *et al.*, 2019 ; Do Socorro Chagas *et al.*, 2022**).



Chapitre II

Matériel et méthodes



II.1. Lieux des expérimentations

Il s'agit d'une étude prospective, clinique et analytique, effectuée sur une période de Cinq mois, allant de Février 2025 jusqu'à Juin 2025.

Ce travail a été mené au sein de plusieurs structures scientifiques :

- **Extraction et screening phytochimique** : laboratoire de projet de fin d'étude (PFE), faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Blida 1 (Saad Dahleb).
- **Formulation de la solution antiseptique** : laboratoires Venus, OuledYaïch, Blida.
Laboratoire de projet de fin d'étude (PFE) bloc E, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Blida 1 (Saad Dahleb).
- **Activité antioxydante** : laboratoire de projet de fin d'étude (PFE), faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Blida 1 (Saad Dahleb).
- **Activité antimicrobienne** : laboratoire d'analyses médicales, unité microbiologie établissement Public Hospitalier TIRICHINE Brahim (EPH), wilaya de Blida.
- **Etude clinique** : Établissement Public de Santé de Proximité d'Ouled Yaïch, salle de soins et de suivi des cas de diabète, Maison du diabète Bounaama Djillali, et service de médecine interne.

Type d'étude :

- a) **Etude pharmacologique** : caractérisation des composés bioactifs de la plante, détermination des effets biologiques, pharmacologique et les mécanismes d'action de *Glycyrrhiza glabra* L., vis-à-vis de l'infection du pied diabétique.
- b) **Etude microbiologique** : identification des germes pathogènes de type staphylocoque, responsables de l'infection du pied diabétique.
- c) **Etude du potentiel thérapeutique** : évaluation de l'efficacité de *Glycyrrhiza glabra* L. dans la prévention et le soin d'hygiène du pied diabétique.

- **Objectif**

L'étude vise à évaluer *in vitro* les propriétés biologiques et phytochimiques des racines de la plante médicinale *Glycyrrhiza glabra* L., pour traiter les infections du pied diabétique.

L'extraction des racines de la plante a été réalisée avec de l'éthanol à 96%, dans le but de démontrer la présence de substances bioactives telles que les polyphénols, flavonoïdes, tanins, saponines ...

L'objectif est d'évaluer l'efficacité pharmacologique d'une solution hygiénique à base de *Glycyrrhiza glabra* L., en mettant en évidence ses propriétés antimicrobiennes et anti-biofilm contre des agents pathogènes résistants, dans le cadre de la prévention et du traitement des infections du pied diabétique.

II.2. Matériel biologique

II.2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des racines de *Glycyrrhiza glabra* L., appartenant à la famille des *fabacées*. Les racines ont été récoltées le 08 février 2025 à Chréa, wilaya de Blida.

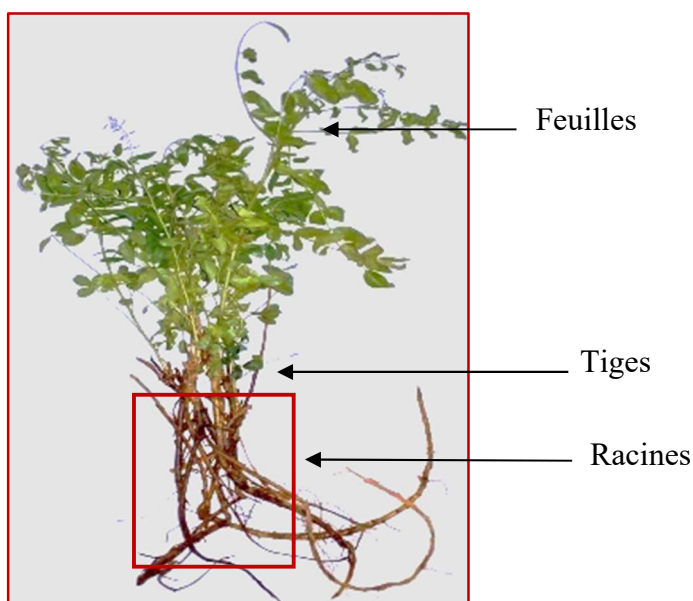


Figure 5 : Racines de *Glycyrrhiza glabra* L. (Photo originale,2025).

II.2.1.1. Présentation du site de récolte

Chrèa est une localité située dans la wilaya de Blida, en Algérie, à environ 15 km du centre-ville. Perchée en altitude dans l'Atlas tellien, elle est connue pour son climat méditerranéen montagnard, avec des hivers froids, longs et souvent enneigés, et des étés doux et secs.

L'identification de la plante a été faite au département de Biotechnologie, Faculté des sciences de la nature et de la vie Université Saad Dahleb Blida 1, par Docteur AKLI (MAA), enseignant spécialiste en botanique.

II.2.2. Souches microbiennes

L'activité antimicrobienne de l'extrait brut de *Glycyrrhiza glabra* L. a été évaluée sur différentes souches bactériennes de référence appartenant de l'American Type Culture Collection (ATCC). Ces souches ont été fournies par l'Institut Pasteur d'Algérie (IPA), garantissant leur authenticité et leur traçabilité.

Tableau III : Souches microbiennes de référence (ATCC)

Espèce	Nature	Référence
<i>Staphylococcus aureus</i>	Bactérie Gram +	ATCC 25923
<i>Escherichia coli</i>	Bactérie Gram -	ATCC 25922
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Bactérie Gram -	ATCC 27853
<i>Enterococcus faecalis</i>	Bactérie Gram +	ATCC 29212

(+) : Positive ; (-) : Négative ; ATCC : American Type Culture Collection

II.2.3. Population humaine étudiée

Des échantillons cliniques ont été prélevés par un simple écouvillonnage chez des patients hospitalisés atteints d'un ulcère du pied diabétique. L'ensemble des malades ont bénéficié des soins au niveau de service de médecine interne de l'Établissement Public Hospitalier (EPH) TIRICHINE Brahim, Blida.

II.3. Matériel non biologique

L'ensemble du matériel non biologique comprenant : de la verrerie, d'équipements, d'appareils, de réactifs et de produits chimiques est regroupé en **Annexe 1**.

II.4. Méthodes

Le schéma adopté pour réaliser cette étude est résumé par la figure ci-dessous :

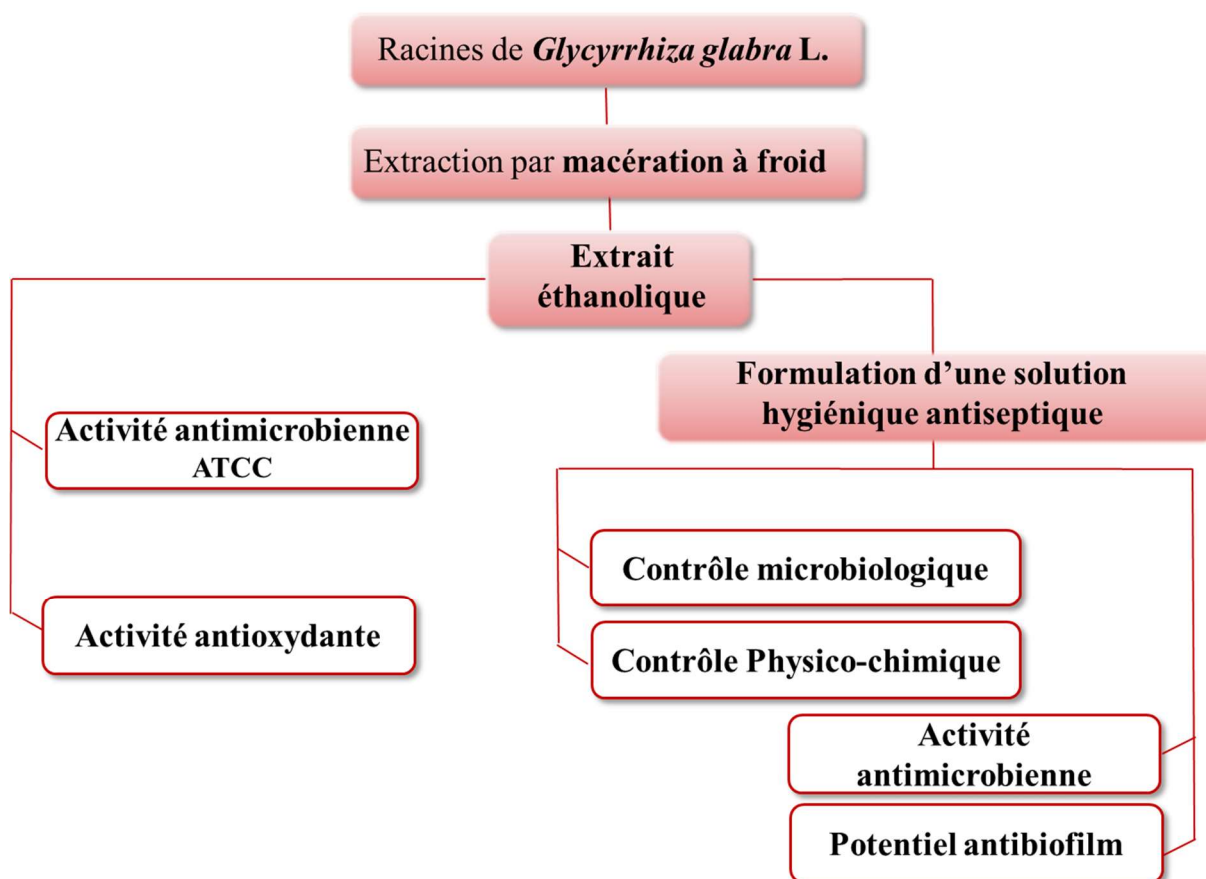


Figure 6 : Organigramme de la démarche expérimentale.

II.4.1. Préparation de l'extrait

Dans la présente étude, l'extrait éthanolique des racines de *Glycyrrhiza glabra* L. a été préparé suivant un protocole opératoire, afin d'évaluer son potentiel d'action sur les infections du pied diabétique. La méthode d'extraction a été utilisée selon le protocole décrit par (Stiani *et al.*, 2024).

- **Traitement préliminaire des racines de réglisse**

Les racines de réglisse récoltées (560 g) ont été soigneusement nettoyées pour éliminer les débris, puis étalées sur un plateau et laissées sécher à l'ombre, à l'abri de la poussière et dans un endroit bien aéré. Le matériel végétal a été découpé en petits morceaux et remué

régulièrement pour assurer un séchage homogène. La durée de séchage a été de 7 à 10 jours, permettant ainsi de préserver les molécules bioactives sensibles à la chaleur et à la lumière.

Une fois séchées, les racines ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique puis tamisées afin d'obtenir une poudre très fine et homogène. Cette dernière a été soumise à une extraction par macération à froid. Au total, (352 g) de poudre de *Glycyrrhiza glabra* L. ont été obtenus. Cette poudre a été conservée dans des bocaux hermétiques, à l'abri de la lumière et de l'humidité.

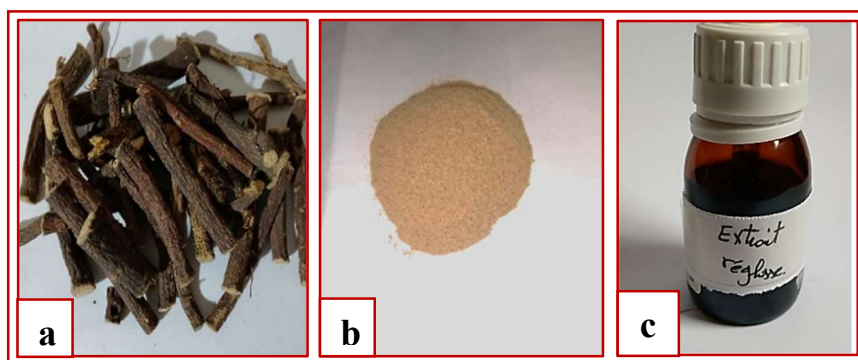


Figure 7 : Procédé de préparation de la poudre des racines de *Glycyrrhiza glabra* L. (Photos originales, 2025).

a : racines ; b : poudre ; c : extrait éthanolique.

II.4.2. Cinétique d'extraction et rendement

Parmi les nombreuses méthodes d'extraction connues, on a opté pour l'extraction par macération à froid, suivant le protocole établi par (Stiani *et al.*, 2024) avec quelques modifications. Le procédé d'extraction adopté consiste à macérer à froid 100g de poudre végétale dans un volume de 500 ml d'éthanol à 96%. Ce mélange a été soumis à une agitation continue pendant une durée de 72h à température ambiante. Le filtrat obtenu a été soumis à une évaporation contrôlée à une température de 90°C à l'aide d'un évaporateur rotatif.

L'extrait éthanolique de *Glycyrrhiza glabra* L. a été soigneusement conservé dans des flacons en verre secs et stériles, à l'abri de la lumière et à une température de 4°C, comme représenté dans la **figure 8**.

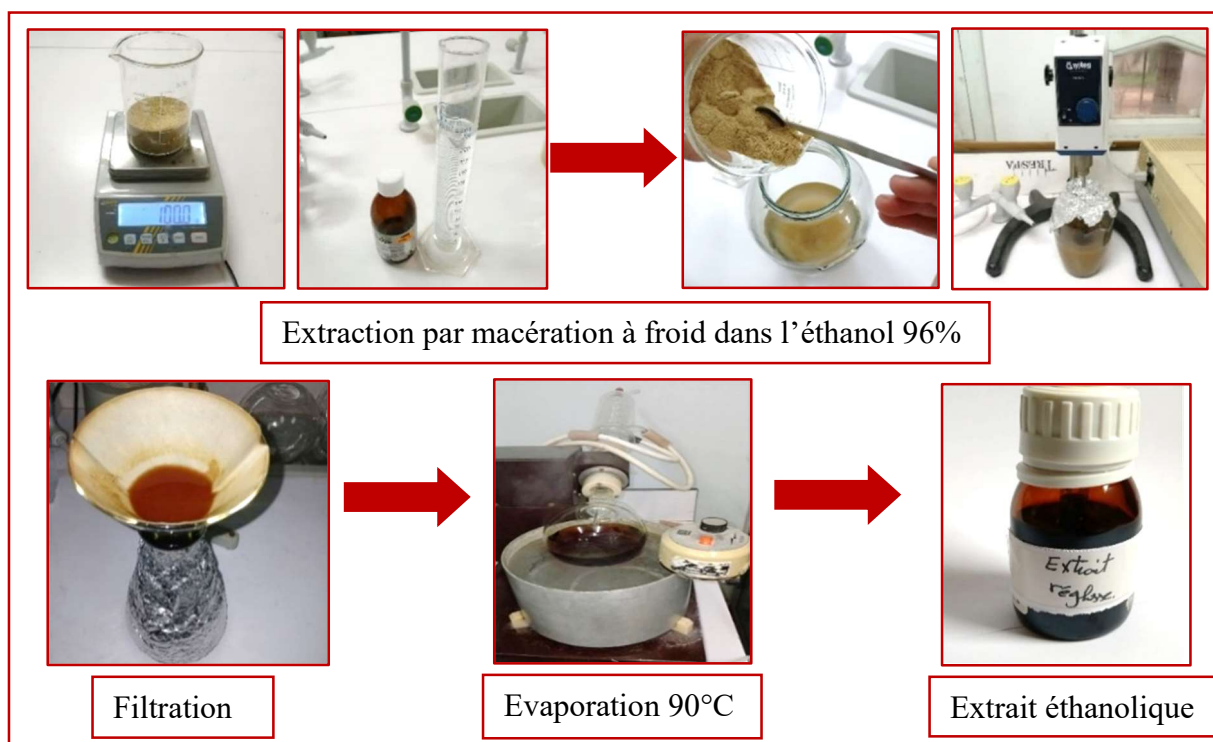


Figure 8 : Procédé d'extraction (photos originales, 2025).

II.4.3. Calcul du rendement

Selon la norme **AFNOR (1986)**, le rendement est défini comme étant le rapport entre le poids de l'extrait sec obtenu et le poids de matière végétale utilisée.

Il est exprimé en pourcentage selon la formule suivante :

$$\text{Rendement d'extraction \%} = \frac{P1 - P2}{P3} \times 100$$

- **P1** : Poids du ballon après évaporation.
- **P2** : Poids du ballon vide.
- **P3** : Poids de la matière végétale sèche de départ.

II.4.4. Screening phytochimique

Le processus de screening phytochimique appliqué sur la matière végétale repose sur des réactions de précipitation ou des réactions colorimétriques. Ces analyses visent à mettre en évidence la présence ou l'absence de principes actifs tels que les tanins, les alcaloïdes, les flavonoïdes, les saponines.

L'objectif de ces tests est de déterminer la composition chimique des racines de la plante *Glycyrrhiza glabra* L.

- **Mise en évidence des flavonoïdes**

Une quantité de 1,5 à 2 g de poudre d'échantillon est mélangée avec 2 ml de solution de NaOH à 2%. La formation d'une couleur jaune intense indique la présence de flavonoïdes. Ce résultat est confirmé par la disparition de la couleur jaune après l'ajout de quelques gouttes d'acide chlorhydrique (HCl), qui donne une solution incolore (Yadav et Agarwala, 2011).

- **Mise en évidence des tanins**

Une quantité de 1,5 g de poudre d'écorces est placée dans un tube à essai en contact avec 10 ml de méthanol. Après une agitation de 15 minutes, le mélange est filtré, puis quelques gouttes de trichlorure de fer (FeCl_3) à 1% sont ajoutées. La couleur vire au brun noir en présence de tanins galliques (tanins hydrolysables) et au bleu verdâtre en présence de tanins catéchiques (Dohou et Yamni, 2003).

- **Mise en évidence des saponines**

Une quantité de 2 g de poudre d'échantillon est mélangée avec 20 ml d'eau distillée et portée à ébullition pendant 15 minutes avant d'être filtrée. Après refroidissement, 10 ml du filtrat sont mélangés avec 5 ml d'eau distillée et agités vigoureusement pendant 2 minutes. La formation d'une mousse persistante, dont la hauteur dépasse 1 centimètre, après 15 minutes confirme la présence de saponines (Békro *et al.*, 2007 ; Amin Mir Prince Mohammad *et al.*, 2013).

- **Mise en évidence des coumarines**

Dans un tube à essai, 2 grammes de poudre d'échantillon sont introduits dans 20 ml d'éthanol et agités pendant 15 minutes avant d'être filtrés. Ensuite, 5 ml du filtrat sont mélangés avec 10 gouttes de solution de KOH à 10% et quelques gouttes d'acide chlorhydrique à 10%. La disparition de la couleur jaune et l'apparition d'un trouble ou d'un précipité sont considérées comme un résultat positif, indiquant la présence de coumarines dans l'échantillon.

- **Mise en évidence des Composés phénoliques**

Dans un tube à essai une goutte de solution alcoolique de FeCl_3 à 2 % a été introduite dans 2 ml d'extrait. L'apparition d'une couleur bleue ou vert foncé signifie la présence de polyphénols (Cheurfa *et al.*, 2017).

- **Mise en évidence des alcaloïdes**

2 g d'extrait a été dissout dans 5 ml de HCl 2 N, puis chauffer et laisser refroidir. Ensuite la solution a été réparti en deux tubes de 1 ml chacun. Dans le premier tube, le réactif de Wagner a été rajouté ; la formation d'un précipité brun confirme la positivité. Enfin, dans le deuxième tube, ajouter le réactif de Dragendorff a été additionné ; un précipité orange signifie un test positif (Stiani *et al.*, 2024).

- **Mise en évidence des terpénoïdes**

0,5 g d'extrait a été dissout dans 2 ml de chloroforme, puis ajouter prudemment de H_2SO_4 . L'apparition d'une coloration brun rougeâtre à l'interface confirme la présence de terpénoïdes (Cheurfa *et al.*, 2017).

- **Mise en évidence des protéines**

1g de poudre végétale est dissout dans 2ml d'hydroxyle de sodium (NaOH) à 20%. Quelques gouttes de CuSO_4 à 2% a été rajouté. Une coloration violette avec une teinte rougeâtre indique la présence des protéines.

- **Mise en évidence d'amidon**

2g de poudre végétale ont été mélangés avec quelques gouttes d'iode aqueuse 2%. La présence d'amidon est confirmée par l'apparition d'une coloration bleue violet.

- **Mise en évidence des anthracéniques (anthraquinones libres)**

0,5 g de poudre de plante est placé dans un tube à essai et mélangé avec 5 ml de chloroforme. Après une agitation manuelle de 5 minutes, le mélange est filtré. Au filtrat, 5 ml de solution d'ammoniaque à 10 % (v/v) sont ajoutés. Un changement de couleur de la phase aqueuse en rose vif indique la présence d'anthracénique (**Raja et al., 2012**).

- **Mise en évidence des anthocyanes**

2 g de poudre végétale sont ajoutés à un Erlenmeyer contenant 20 ml d'un mélange propanol/acide chlorhydrique (1/1). Le mélange est chauffé au bain-marie dans de l'eau bouillante pendant quelques minutes. L'apparition d'une coloration rouge indique la présence de leuco-anthocyanes.

II.4.5. Screening pharmacologique

II.4.5.1. Elaboration d'une solution hygiénique antiseptique

- **Objectif**

Afin de valoriser l'extrait obtenu en tant que produit d'intérêt thérapeutique, on a élaboré une solution antiseptique à base de *Glycyrrhiza glabra* L., destinée aux soins locaux et à la prise en charge des infections du pied diabétique, en exploitant ses propriétés antimicrobiennes, anti-biofilm et antioxydantes.

- **Procédé de fabrication**

Dans un bécher stérile, une quantité d'eau osmosée a été mélangée avec 15 % de glycérine jusqu'à l'obtention d'une solution blanchâtre. Ensuite, 1,5 % de l'acide ascorbique (vitamine C), a été additionné, suivi de l'ajout de 3 % d'extrait pur de *Glycyrrhiza glabra* L.

Enfin, un conservateur a été rajouté. Si nécessaire, un ajustement du pH a été effectué afin d'atteindre une valeur comprise entre [4,2 - 6,8] en accord avec le pH physiologique de la peau (figure 9).

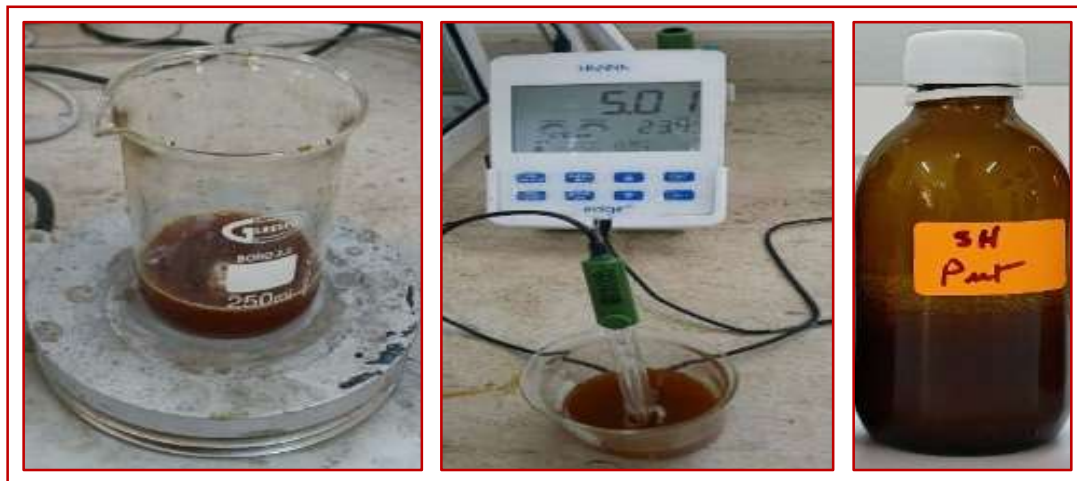


Figure 9 : Formulation de la solution hygiénique (Photos originales, 2025).

Tableau IV : Composition de la solution antiseptique à base d'extrait des racines de *Glycyrrhiza glabra* L.

Composition		Quantité (%)
Macérat	Extrait éthanolique des racines de <i>Glycyrrhiza glabra</i> L.	3%
	Eau osmosée.	80%
Excipients	Glycérine.	15%
	Acide ascorbique (Vitamine C).	1,5%
	Conservateur.	0.5%

- **Contrôle physico-chimique**

- ✓ **Mesure du pH :** À l'aide d'un pH-mètre, le potentiel hydrogène d'une quantité bien déterminée de la solution antiseptique 3% a été mesuré.
- ✓ **Test organoleptique :** Un examen macroscopique de la solution d'hygiène 3% a été réalisé, fondé sur différentes caractéristiques organoleptiques tels que (Aspect - Couleur -Odeur), ont été évalués par des observations visuelles.

- **Contrôle microbiologique**

Le contrôle microbiologique de la solution hygiénique est une étape indispensable dans l'évaluation de sa qualité et de sa sécurité d'utilisation. Les analyses microbiologiques visent à rechercher les micro-organismes responsables de toute contamination du produit fini. Le protocole suivi pour ces analyses est celui noté par **la pharmacopée européenne (2012)**.

La recherche et le dénombrement des germes ont été réalisés en suspendant 1 g de solution hygiénique dans 10 ml de bouillon TSE, suivi d'une agitation du mélange pendant quelques minutes (**Figure 10**).

- ✓ **Recherche des moisissures et des levures :** la même procédure précédemment décrite est suivie en utilisant cette fois-ci le milieu gélosé Sabouraud liquéfié, incubée à 37°C pendant 5 jours (**Figure a**).
- ✓ **Recherche de *Staphylococcus aureus* :** La même procédure que celle précédemment décrite est appliquée, en utilisant un milieu gélosé à base d'agar au mannitol salé (Chapman), puis incubée à 37 °C pendant 24 heures. L'apparition de colonies de couleur dorée, accompagnée d'un changement de la couleur du milieu de rouge à jaune, dû à la fermentation du mannitol révélée par l'indicateur coloré (rouge de phénol), indique la présence de *Staphylococcus aureus* (**Figure b**).

- ✓ **Recherche des entérobactéries et germes totaux** : Un mélange de 10 ml de TSE et de 1 g de la solution hygiénique est incorporé dans la gélose VRBL (lactose biliée au cristal violet et rouge neutre) préalablement liquéfiée. Après homogénéisation par agitation circulaire, la préparation est laissée solidifier, puis incubée à 37 °C pendant 24 heures (Figure c).

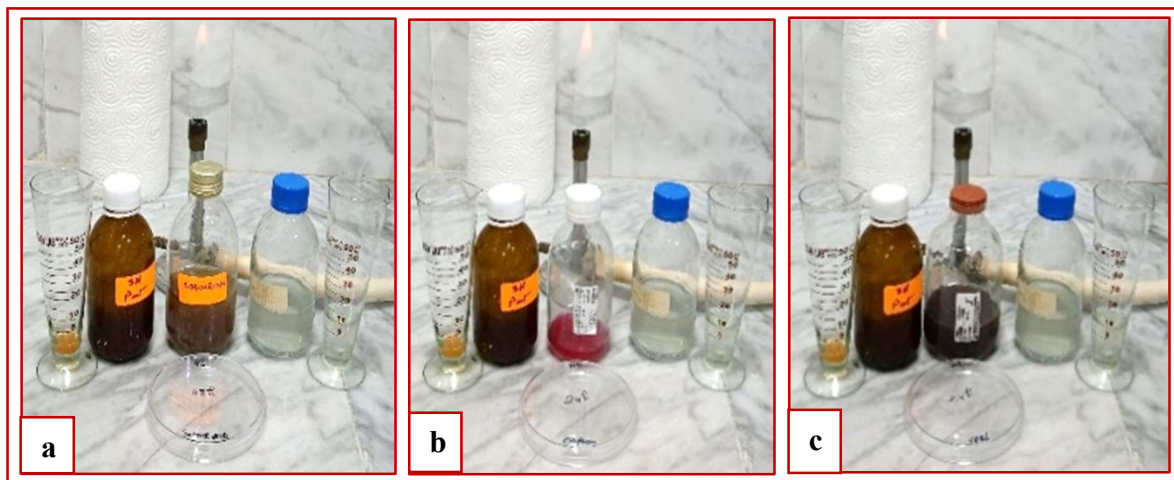


Figure 10 : Contrôle microbiologique de la solution hygiénique (Photo originale, 2025).

a : milieu Sabouraud ; b : milieu Chapman, c : milieu VRBL.

- **Lecture des résultats** : les résultats sont exprimés en colonie formant unité (CFU). Le produit est déclaré conforme si les résultats sont inférieurs aux limites citées par (pharmacopée européenne, 2012) :
 - ✓ Germes totaux : ≤ 200 UFC/g.
 - ✓ Entérobactéries : ≤ 10 UFC/g.
 - ✓ Levures et moisissures : ≤ 20 UFC/g.
 - ✓ *Staphylococcus aureus* : absence.

II.4.5.2. Etude clinique des malades atteints des infections du pied diabétique

27 patients du sexe masculin (âgés entre 41 à 79 ans) atteints d'infections du pied diabétique sont venus en consultation dans le cadre de la prise en charge de leur état clinique, au service de médecine interne de l'Établissement Public Hospitalier (EPH) Ibrahim Tarchichine, Blida. L'ensemble des malades ont bénéficié des prélèvements cliniques superficiels et profonds. Les critères de sélection des patients détaillés sont figurés en **Annexe 5**.



Figure 11 : Prélèvements cliniques (pus d'ulcère pied diabétique) (photos originales,2025).

Les prélèvements ont été réalisés avec précaution à l'aide d'un écouvillon stérile, dans le respect strict des règles d'asepsie, afin d'éviter les résultats faussement positifs. En raison du caractère parfois douloureux du geste, une attention particulière a été portée au confort du patient. Les échantillons ont ensuite été immédiatement transportés au laboratoire pour les analyses microbiologiques.

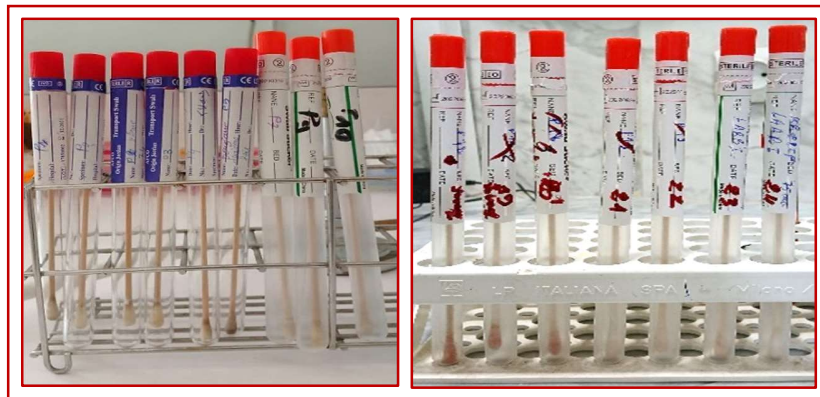


Figure 12 : Prélèvements cliniques (Photo originale, 2025).

II.4.5.3. Evaluation de l'activité antimicrobienne *in vitro*

L'évaluation de l'activité antimicrobienne consiste à mesurer la capacité d'un composé à inhiber ou tuer des bactéries, souvent à de très faibles concentrations. L'efficacité varie selon la nature du composé, la structure chimique, et la souche bactérienne ciblée.

L'activité antimicrobienne a été évaluée *in vitro* par trois méthodes : une technique de diffusion radiale par puits d'agar sur milieu solide, une méthode de dilution en milieu liquide, afin de déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI), une méthode de tissu en plaque (TCP).

- **Culture et isolement des bactéries**

Les prélèvements ont étéensemencés sur un milieu de culture sélectif Chapman en utilisant la technique des quadrants. Ensuite, les boîtes de Pétri ont été incubées dans une étuve à une température de 37 °C pendant 24 heures.

- **Identification des bactéries**

Après incubation, les bactéries isolées ont été identifiées au moyen de la coloration de Gram et des tests biochimiques standardisés.

- **Examen macroscopique**

L'examen macroscopique permet d'observer, à l'œil nu, l'aspect des colonies bactériennes développées dans les boîtes de Pétri, dans le but de mieux les décrire et les caractériser

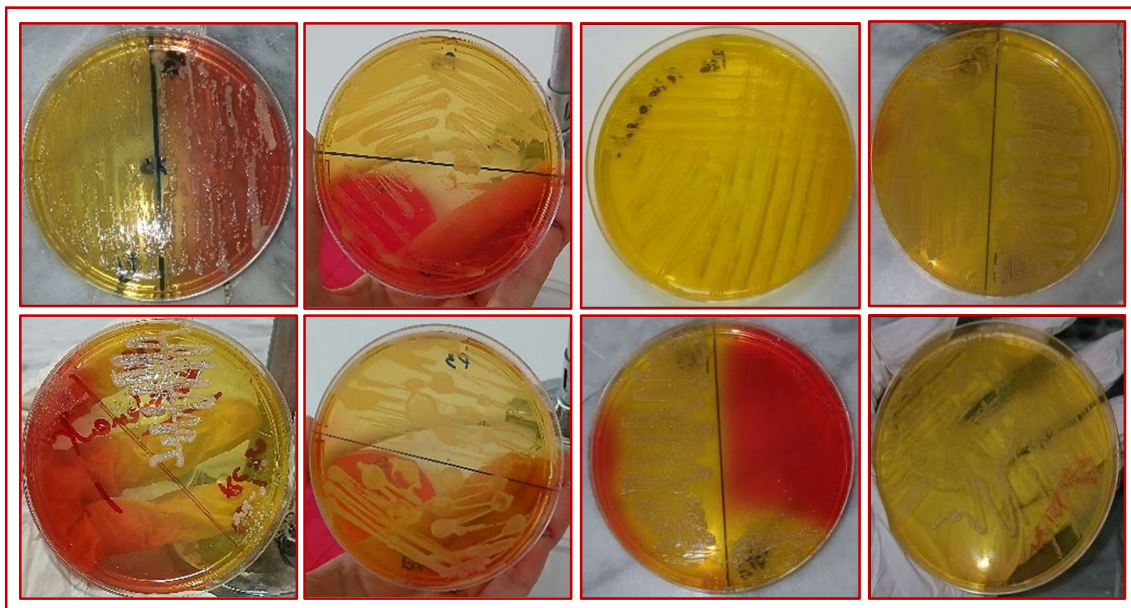
Tableau V.

- ✓ Aspect morphologique des colonies.
- ✓ Présence de pigmentations.

Tableau V : Caractérisation de l'espèce bactérienne isolée

Espèce	Gram	Macroscopie	Microscopie	Caractères biologiques
<i>Staphylococcus aureus</i>	Positif	Colonies colorées en Jaune d'or	Cocci en amas ou en grappe de raisin Immobilis	Aéro-anaérobie facultatif

Sur milieu Chapman, des colonies jaunes indiquent la fermentation du mannitol par *Staphylococcus aureus*, tandis que des colonies blanches sans changement de Couleur Suggèrent d'autres staphylocoques notamment *Staphylococcus epidermidis*.

Figure 13 : Isolement des *Staphylococcus aureus* (Photos originales, 2025).

a) Coloration de gram :

L'examen au microscope des souches isolées après coloration de Gram, permet de classer les bactéries en deux groupes (bactérie à Gram positif, bactérie à Gram négatif) selon leur couleur sous microscope (Moyes *et al.*, 2009).

b) Teste biochimiques :

Les tests biochimiques utilisés sont :

- ✓ Test de catalase.
- ✓ Test de coagulase.
- ✓ Test d'oxydase.

La méthode réalisée pour évaluer la sensibilité et le criblage des germes responsables des problèmes d'infection du pied diabétique, repose sur l'aromatogramme, une technique similaire à l'antibiogramme, définie par la technique de diffusion radiale par puits d'agar sur milieu Mueller Hinton (Belhaj *et al.*, 2016 ; Rezagui et Chiahi, 2024).

L'objectif de ce travail est d'évaluer l'effet inhibiteur de la croissance des microorganismes vis-à-vis de l'extrait brut de *Glycyrrhiza glabra* L., et de la solution hygiénique valorisée.

A. Méthode de diffusion radiale sur gélose**• Principe**

Selon la standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale (CLSI, 2020), la sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis des antibiotiques a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu solide de Muller-Hinton (MH). Ce dernier un milieu non sélectif, Utilisé systématiquement pour les antibiogrammes.

La technique employée repose sur l'inhibition de la croissance microbienne au contact d'un extrait naturel, selon la méthode des puits de diffusion.

- **Mode opératoire**

En premier lieu, l'activité antimicrobienne a été réalisée vis-à-vis des souches bactériennes de référence (ATCC) et en deuxième lieu, vis-à-vis des souches cliniquement isolées (pathogènes).

- **Préparation de l'inoculum**

Les suspensions bactériennes ont été préparées à l'aide d'une pipette Pasteur insérée dans un écouvillon stérile. Trois à cinq colonies bien isolées, morphologiquement identiques, ont été raclées, puis transférées dans 5 ml d'eau physiologique stérile (0,9 %), et laisser l'écouvillon trempé dans la suspension bactérienne. La densité de la suspension a été ajustée à 0,5 Mc Farland (Rezagui et Chiahi, 2024).

- **Aromatogramme/ antibiogramme**

Afin d'évaluer le potentiel antimicrobien de l'extrait éthanolique et de la solution hygiénique. Un écouvillon imbibé de la suspension préalablement préparée a étéensemencé en surface sur le milieu de culture gélose Müller Hinton (Rezagui et Chiahi, 2024), Des trous circulaires de 0.6 mm ont été creusés dans la gélose et remplis de 90µl de l'extrait éthanolique et de la solution hygiénique (Belhaj *et al.*, 2016).



Figure 14 : Méthode de diffusion radiale par puits (Photo originale, 2025).

Le but de l'antibiogramme est de prédire la sensibilité d'un germe, préalablement isolé et identifié à un ou plusieurs antibiotiques dans une optique essentiellement thérapeutique.

Des disques d'antibiotique pénicilline (**P**) et Gentamicine (**GEN**) ont été utilisés comme contrôle positif.

Tableau VI : Antibiotiques testés vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*

Famille	Antibiotique	Charge (µg)
β -lactamine	Pénicilline (P)	10
Aminoside	Gentamicine (GEN)	10

Les boîtes pétries ont été incubées à 37°C pendant 24h, à la fin de l'incubation l'activité antibactérienne a été notée en mesurant la zone d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse.

- **Lecture de résultats**

L'absence de toute croissance bactérienne se traduit par un halo translucide autour du puit. Le diamètre est mesuré à l'aide d'un pied à coulisse et exprimé en millimètres (mm). Les résultats étant la moyenne des trois essais.

B. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) et la Concentration Minimale Bactéricide (CMB)

1. Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)

La CMI est définie comme la plus faible concentration d'un extrait végétal capable d'inhiber la croissance visible des bactéries après une incubation de 24 heures. Cette méthode permet de déterminer l'efficacité antibactérienne de l'extrait végétal et de définir la concentration optimale pour une utilisation thérapeutique (**Ganfon et al.,2019**).

- **Méthode par micro-dilution en milieu liquide**

La concentration minimale inhibitrice (CMI) a été déterminée par la méthode de micro-dilution en milieu liquide à l'aide d'une microplaque à 96 puits. Chaque puits a été rempli avec 50 µL de bouillon de culture BHIB stérile. Une solution hygiénique concentrée à 100 % a été introduite dans le premier puits, puis une série de dilutions successives a été réalisée selon une

progression géométrique de raison 2. Pour cela, 50 µL du contenu du premier puits ont été transférés dans le second, mélangés, puis 50 µL de ce second puits ont été transférés dans le troisième, et ainsi de suite jusqu'à atteindre une concentration finale de 1,6 % dans le dernier puits. Les 50 µL du dernier puits ont été éliminés afin de maintenir un volume constant. Ensuite, 20 µL d'une suspension bactérienne standardisée à 0,5 Mc Farland ont été ajoutés dans chaque puits. Un témoin négatif a été réalisé en incluant uniquement 50 µL de BHIB, sans ajout de solution hygiénique ni de la suspension bactérienne, afin de s'assurer de la stérilité du milieu. La microplaque a été incubée à 37 °C pendant 18 à 24 heures (**Ganfon *et al.*,2019**).

2. Concentration Minimale Bactéricide (CMB)

La Concentration Minimale Bactéricide (CMB) a été déterminée par ensemencement des contenus de tous les puits après la détermination de la CMI et incubés à 37°C pendant 18 à 24 heures. La plus faible concentration de l'extrait qui n'a laissé survivre aucune bactérie correspond à la CMB (**Ganfon *et al.*,2019**).

- **Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)**

Pour la détermination de la CMB, des boîtes de Pétri stériles ont été remplies avec du gélose nutritive (GN) fondue, puis laissées à refroidir et solidifier à température ambiante. Les boîtes ont ensuite été réparties selon les résultats obtenus lors de la CMI. Trois boîtes de Pétri ont été utilisées, chacune divisée en quatre secteurs correspondant aux quatre souches testées de *Staphylococcus aureus*. Chaque secteur a reçu un point d'ensemencement (spot) de 5 à 10 µL prélevé à partir des puits de la microplaque correspondant aux concentrations sans trouble visible, c'est-à-dire celles ne présentant pas de croissance bactérienne apparente. Ces échantillons ont été déposés directement sur la surface de l'agar pour chaque souche, et les boîtes ont ensuite été incubées à 37 °C pendant 24 heures.

La CMB est déterminée comme étant la plus faible concentration de la solution testée pour laquelle aucune colonie bactérienne ne se développe après incubation. (**Ganfon *et al.*,2019**).

Le pouvoir antibactérien de la solution antiseptique a été déterminé en effectuant le rapport de la CMB sur la CMI. S'il est supérieur ou égal à 4, l'extrait est bactériostatique, s'il est inférieur à 4, l'extrait est bactéricide.

CMB/ CMI < 4= profil bactéricide

CMB/ CMI ≥ 4= profil bactériostatique

C. Potentiel anti-biofilm

Dans les infections du pied diabétique, il est essentiel de déterminer si les souches cliniques prélevées, en particulier *Staphylococcus aureus*, sont capables de former un biofilm, afin d'orienter les stratégies thérapeutiques et de mieux cibler leur éradication.

- **Biofilm**

Il représente l'ensemble des cellules microbiennes immobilisées dans une matrice de polymère extracellulaires constituée principalement de polysaccharides, de protéines, d'ADN extracellulaire et de lipides, agissant comme un système de fonctionnement indépendant et régulé de manière homéostatique (Percival *et al.*, 2011; Gonzalez-Henao et Schrenk, 2025).

➤ Une méthode de détection de la production de biofilm *in vitro* a été effectuée.

- **Technique de tissu en plaque (TCP)**

La méthode consiste à déposer dans chaque puits de la microplaque un volume de 50µl de BHIB additionné à 50µl de saccharose 2 %, afin de favoriser la croissance bactérienne et un volume de 20µl d'une suspension bactérienne à 0,5 MF. Les puits non inoculés sont considérés comme témoins négatifs. Ensuite la microplaque de 96 puits a été incubée à 37 °C pendant 24 heures. Après incubation, la phase planctonique a été retirée soigneusement en lavant les puits quatre fois avec 20 µl de tampon phosphate salin (TPS à pH 7,2). Les biofilms potentiellement formés par les micro-organismes sessiles ont été fixés en rajoutant de l'acétate de sodium 2 %. La révélation des cellules adhérentes au support de polystyrène (puits de la microplaque) a été réalisée par la méthode de Crystal Violet (Chavant *et al.*, 2007).

Afin d'éliminer toute trace de colorant superficiel, la microplaque a été lavée avec de l'eau distillée stérile et laissée sécher à température ambiante (Anan *et al.*, 2024).

La mesure qualitative de la production de biofilm a été reposée sur l'intensité de la couleur de la biomasse adhérente, sous forme d'un anneau de colorant Crystal Violet tapissant la paroi, ou bien d'un point visible recouvrant le fond des puits de la microplaque 96.

Les scores de la formation de biofilm ont été interprété comme suit :

- ✓ Absence d'adhérence bactérienne :(-)
- ✓ Cellules bactériennes faiblement adhérentes :(+)
- ✓ Cellules bactériennes modérément adhérentes :(++)
- ✓ Cellules bactériennes extrêmement adhérentes : (+++)

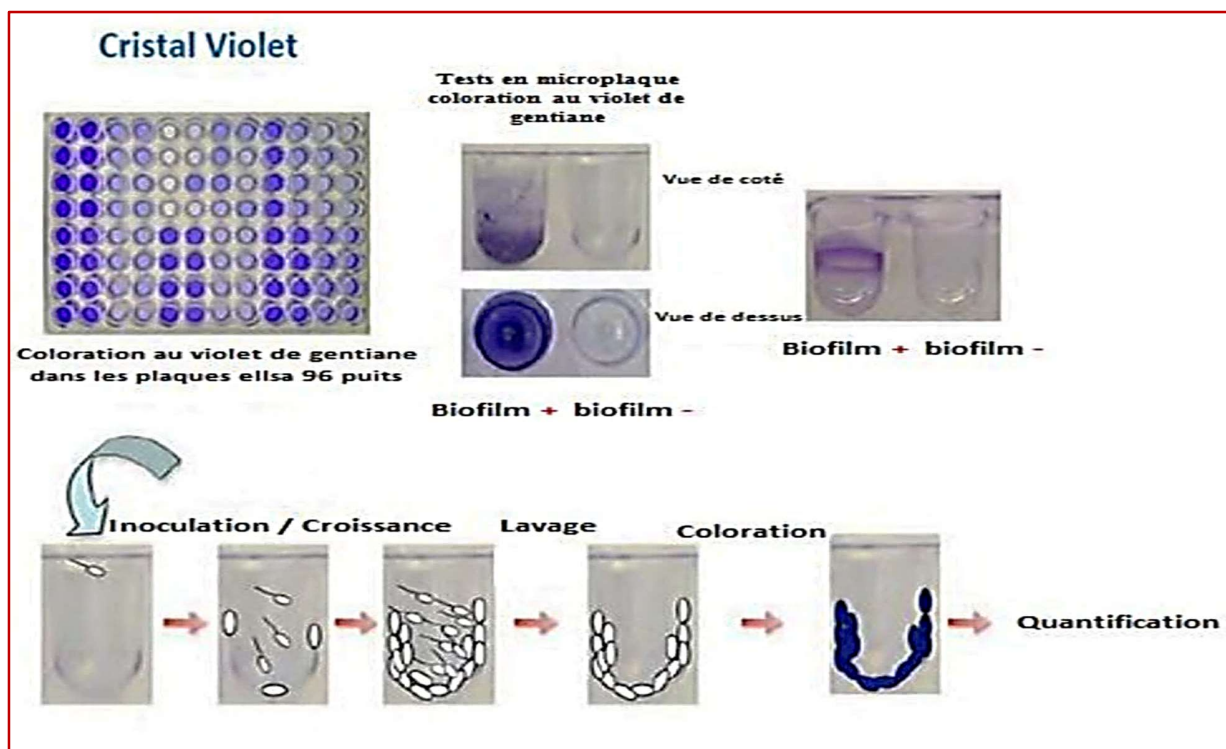


Figure 15 : Formation du biofilm sur microplaque (La méthode de TCP) (Beliffa, 2014).

➤ Évaluation du potentiel anti-biofilm

Après avoir confirmé la capacité des souches de *Staphylocoques aureus* isolées cliniquement de former le biofilm, le procédé d'anti-biofilm a été effectué sur une microplaque de 96 puits suivant le protocole de (Sarah Diyana Amran *et al.*, 2024) avec quelques modifications.

• Évaluation du potentiel anti-biofilm de la solution hygiénique sur microplaque

La technique consiste de remplir chaque puits par un volume de 50 µl de milieu de culture BHIB. Préalablement préparée, une concentration de 100 % de la solution antiseptique a été introduite dans le premier puits, puis un volume de 50 µl du mélange a été reporté d'un puit à une autre, selon une progression géométrique de raison 2. Les concentrations finales ainsi obtenues étaient de 100 % jusqu'à 1,6 %. Une suspension bactérienne a été inoculée et additionnée de saccharose 2 %. Après incubation à 37 °C pendant 24 heures, le surnagent a été aspiré et les puits ont été lavés. La révélation d'adhérence cellulaire des bactéries fixées a été réalisée par la coloration au Crystal Violet pendant 45 minutes (Sarah Diyana Amran *et al.*, 2024).

II.4.5.4 Activité antioxydante *in vitro*

L'activité antioxydante *in vitro* de l'extrait des racines de *Glycyrrhiza glabra* L. a été évaluée par la méthode de piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle), selon le protocole décrit par Molyneux (2004). Cette méthode repose sur la capacité d'un antioxydant à réduire le radical DPPH stable, caractérisé par sa couleur violette intense, qui se décolore lorsqu'il capte un électron ou un atome d'hydrogène. Cette décoloration témoigne de l'aptitude de l'extrait à neutraliser les radicaux libres, indépendamment de toute activité enzymatique (Eghlima *et al.*, 2020).

Concrètement, une solution de DPPH a été préparée à une concentration de 0,004 g/100 ml de méthanol (Nazzal *et al.*, 2023).

Des dilutions ont été effectuées pour obtenir de différentes concentrations de l'extrait, allant de 100 µg/ml, 250 µg/ml, 500 µg/ml et 1000 µg/ml, ainsi qu'une prise de la solution mère 2 ml de chaque concentration de l'extrait ont été mélangés avec 3 ml d'une solution de DPPH, puis incubés à l'obscurité, à température ambiante (25 °C), pendant 30 minutes (Akram *et al.*, 2015).

L'inhibition du radical libre DPPH par l'antioxydant de référence : acide ascorbique (Vitamine C) a été également analysée. Le contrôle négatif a été préparé en mélangeant 2 ml de méthanol avec 3 ml de la solution de DPPH (Akram *et al.*, 2015).

Après incubation, l'absorbance a été mesurée à **517 nm** à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible.

L'activité antioxydante (AA%) a été calculée selon la formule suivante :

$$AA (\%) = \frac{(A_0 - A_s)}{A_0} \times 100$$

Où :

- ✓ **AA (%)** = Pourcentage de l'activité antioxydante
- ✓ **A₀** = Absorbance de la solution de DPPH seule (témoin)
- ✓ **A_s** = Absorbance de la solution de DPPH contenant l'échantillon

➤ Détermination de la concentration inhibitrice de 50% (IC₅₀)

L'IC₅₀ représente la concentration de l'extrait nécessaire pour inhiber 50 % du radical DPPH, permettant ainsi d'évaluer l'activité antioxydante d'un composé. Les valeurs d'IC₅₀ ont été déterminées graphiquement en représentant les pourcentages d'inhibition en fonction des différentes concentrations de l'extrait éthanolique des racines de réglisse. Plus la valeur de l'IC₅₀ est faible, plus l'activité antioxydante de l'extrait est importante. Les résultats sont exprimés en mg/ml (Oraibi *et al.*, 2025).

II.4.6. Etude statistique

L'analyse statistique des données a été réalisée à l'aide d'un logiciel statistique Excel. Cette analyse visait à comparer l'effet antibactérien de l'extrait éthanolique des racines de *Glycyrrhiza glabra* L. et la solution hygiénique aux produits de références existants, ainsi à comparer l'effet antioxydant de l'extrait éthanolique à la vitamine C, utilisée dans l'étude comme témoin positif.

Pour ce faire, le test **ANOVA** (Analysis of Variance) a été réalisé, en considérant un seuil de signification $\alpha=0,05\%$, avec :

- ✓ $P > 0.05$: la différence est non significative.
- ✓ $P < 0.05$: la différence est significative.



Chapitre III

Résultats et discussion



III.1. Résultats du rendement

Dans le but de l'extraction des composés actifs des racines de *Glycyrrhiza glabra* L., le calcul du rendement est crucial pour évaluer l'efficacité de procédé d'extraction. Les résultats du rendement sont présentés dans le **Tableau VII**.

Le choix du solvant éthanol (96%) dans le procédé d'extraction, dépend principalement de sa biodisponibilité, de sa nature biodégradable et de son utilisation majeure dans l'industrie pharmaceutique et cosmétique et aussi moins toxique que d'autre solvants.

Tableau VII : Rendement de l'extrait éthanolique par rapport à la matière végétale

<i>Glycyrrhiza glabra</i> L.	Masse de matériel végétal (g)	Masse de l'extrait (g)	Rendement d'extraction (%)
Extraction	100 g	32,6 g	32,6 %

Le protocole choisi pour la présente étude est basé sur une macération à froid, et à l'abri de la lumière pour préserver les composés thermosensibles.

D'après les résultats obtenus, le rendement d'extraction est significativement élevé, il est de **32,6 %** par rapport au poids initial de la poudre végétale. Des études ultérieures ont rapporté que les plantes ayant des rendements d'extraction élevés contiennent une forte teneur en substances phénoliques(Cheurfa *et al.*, 2017 ; Stiani *et al.*, 2024).

Nos résultats indiquent que le rendement d'extraction est plus élevé par rapport à **Sathya *et al.*, (2017)** et **Stiani *et al.*, (2024)**, qui ont trouvé un pourcentage de rendement estimé à **12,7%** pour un extrait méthanolique, et **15,62 %** avec de l'éthanol à 96% respectivement. Cela dépasse aussi les résultats de **Cheurfa *et al.*, (2017)** , qui ont obtenu **9,49 %** comme rendements pour l'extrait aqueux, et **8,93 %** pour l'extrait méthanolique.

Selon Babich *et al.*, (2022), la méthode d'extraction et le type de solvant influencent fortement le rendement. Ce dernier obtenu par ultrasons est de **28,7%** avec de l'éthanol à 96 %, **25,1 %** avec de l'éthanol à 50 %, et **20,3 %** avec du méthanol. Par contre la méthode d'extraction par Soxhlet au méthanol a donné **21,31 %**.

D'après Cheurfa *et al.*, (2017) et Stiani *et al.*, (2024), granulométrie, l'origine de la plante, ou les conditions de culture peuvent également impacter l'efficacité d'extraction.

L'utilisation de la poudre à la place de la plante entière a pour but d'améliorer l'extraction du fait de rendre l'échantillon plus homogène, augmenter la surface du contact avec le solvant et faciliter sa pénétration à l'intérieur des cellules qui ne sont pas détruites après le broyage (Mohammedi, 2013).

Enfin, Zatla et Hammoudi, (2024) ont obtenu un rendement d'extraction estimé à **16 %** d'extrait hydroalcoolique. Cela confirme que le solvant choisi a permis une meilleure récupération.

L'utilisation d'un solvant polaire comme l'éthanol 96 % pour une macération froide est indiquée pour extraire au maximum les métabolites secondaires de la plante, et aussi pour conserver le plus possible leurs propriétés et leurs structures (Bernardo-Bermejo *et al.*, 2020).

- **Description de l'extrait obtenu**

L'extrait éthanolique obtenu par macération à froid de la poudre des racines de *Glycyrrhiza glabra* L. est caractérisé par une couleur marron foncé et présente un aspect visqueux.

Les propriétés organoleptiques de l'extrait éthanolique de *Glycyrrhiza glabra* L. sont Indiquées dans le **Tableau VIII**.

Tableau VIII : Aspect, couleur et odeur de l'extrait éthanolique de *Glycyrrhiza glabra* L.

	Couleur	Odeur	Aspect
Extrait éthanolique des racines de <i>Glycyrrhiza glabra</i> L.	Marron foncée	Odeur végétale (Régλισse)	Visqueux

III.2. Résultats du screening phytochimique

Le criblage phytochimique a été effectué dans le but de mettre en évidence la présence de certaines substances chimiques, qui peuvent être responsables des activités biologiques et pharmacologiques. Le principe est basé soit sur la formation de complexes colorés ; en utilisant des réactions de coloration, soit sur la turbidité, soit par la formation de mousse, ou bien par la disparition de couleur qui est proportionnelle à la quantité de la substance recherchée.

Les résultats sont classés selon l'apparition en :

- ✓ Réaction fortement positive : ++++
- ✓ Réaction positive : +++
- ✓ Réaction moyennement positive : ++
- ✓ Réaction négative : -

La composition chimique des racines de *Glycyrrhiza glabra* L. est regroupée dans le tableau suivant :

Tableau IX : Caractérisation phytochimique des substances bioactives des racines de *Glycyrrhiza glabra* L

Métabolites secondaires	Résultat
Flavonoïdes	++
Tanin galliques	+++
Saponines	++++ (6 ,5cm)
Coumarine	++++
Composé phénolique	+++
Alcaloïdes	+++
Terpénoïdes	+++
Protéines	-
Amidon	-
Lipides	-

Stéroïdes (insaturés)	+++
Anthocyanes (leuco-anthocyanes)	+++
Anthraquinones libre	-

L'ensemble des essais phytochimiques effectués sur les racines de *Glycyrrhiza glabra* L. ont révélé la présence de plusieurs constituants phytochimiques, avec des estimations très élevées en saponines et coumarine, des concentrations élevées en tanin galliques, composé phénolique, en alcaloïdes, en terpénoïdes, en stéroïdes (insaturés), en anthocyanes (leuco-anthocyanes), et des concentrations modérées ont été trouvées en flavonoïdes. Une absence totale des protéines, amidon, lipides et des anthraquinones libre ont été remarqués.

Ces résultats sont partiellement en accord avec plusieurs études antérieures :

Selon **Cheurfa et al., (2017)**, les extraits aqueux et méthanoliques de *G. glabra* ont montré la présence de composés phénoliques, flavonoïdes et tanins, mais l'absence d'alcaloïdes et de glycosides dans les extraits testés.

De leur côté, **Sharma et al., (2013)** ont trouvé dans l'extrait hydro-méthanolique la présence de flavonoïdes, saponines, terpénoïdes, et alcaloïdes, ce qui est en accord avec nos résultats, notamment pour les alcaloïdes, saponines et terpénoïdes.

De même, **Zatla et Hammoudi, (2024)** ont observé dans l'extrait hydroalcoolique de *G. glabra* une forte présence de flavonoïdes, alcaloïdes, saponines, stéroïdes, polyphénols et une présence modérée des tanins.

Cette étude renforce la cohérence de nos résultats, notamment concernant la diversité des métabolites secondaires. (**Archana et Vijayalakshmi, 2016**) ont rapporté la présence de phénols, flavonoïdes, tannins, saponines, terpénoïdes, alcaloïdes, protéines, quinones dans les extraits aqueux, éthanoliques et hydro-alcooliques. À noter que des protéines ont été détectées dans leur étude, contrairement à nos observations.

Les différences dans les recherches peuvent s'expliquer par une gamme de facteurs, dont le solvant utilisé, les milieux géographiques et périodes de récolte, la méthode d'extraction (macération ou Soxhlet), la durée d'extraction, et la température, etc (**Zatla et Hammoudi, 2024**).

Selon Sharma *et al.*, (2013) et Cheurfa *et al.*, (2017), les saponines et tanins sont bien connus par leurs activités antimicrobiennes et cicatrisantes. Aussi, les flavonoïdes et les composés phénoliques possèdent une forte activité antioxydante et anti-inflammatoire. Par ailleurs, les alcaloïdes et terpènes pourraient également contribuer à l'effet antibactérien.

Sur le plan antimicrobien thérapeutique, la forte présence de saponines, de tanins, de flavonoïdes et de composés phénoliques pourrait renforcer le potentiel de l'extrait obtenu des racines de *Glycyrrhiza glabra* L. dans le traitement des infections du pied diabétique.

III.3. Résultats du screening pharmacologique

III.3.1. Etude analytique de la solution hygiénique

Les caractéristiques organoleptiques de la solution hygiénique sont portées dans le **Tableau X**.

Tableau X : Caractéristiques organoleptiques et chimiques de la solution hygiénique

	Aspect	Couleur	Odeur	pH
Solution hygiénique	Liquide	Marron foncé	Odeur végétale (Réglisse)	5

III.3.2. Contrôle de qualité microbiologique de la solution hygiénique

La solution hygiénique formulée a été soumise à des analyses microbiologiques visant à déterminer le taux de contamination bactérienne et fongique (levures et moisissures) et vérifier l'absence de germes pathogènes. Les résultats obtenus sont présentés dans le **tableau XI** suivant :

Tableau XI : Qualité microbiologique de la solution hygiénique

Germes recherchés	Solution hygiénique (UFC/g)	Normes de la Pharmacopée Européenne (UFC/g) (2012)
Germes aérobies viables Totaux	00	≤ 200
Levures et moisissures	00	≤ 20
Entérobactéries	00	≤ 10
<i>Staphylococcus aureus</i>	00	00

Après incubation sur géloses Lactose Biliée au Crystal Violet et au Rouge Neutre (VRBL), Chapman et sur Sabouraud, aucune croissance bactérienne ou fongique n'a été trouvée, de même pour les colonies de la souche *Staphylococcus aureus*.

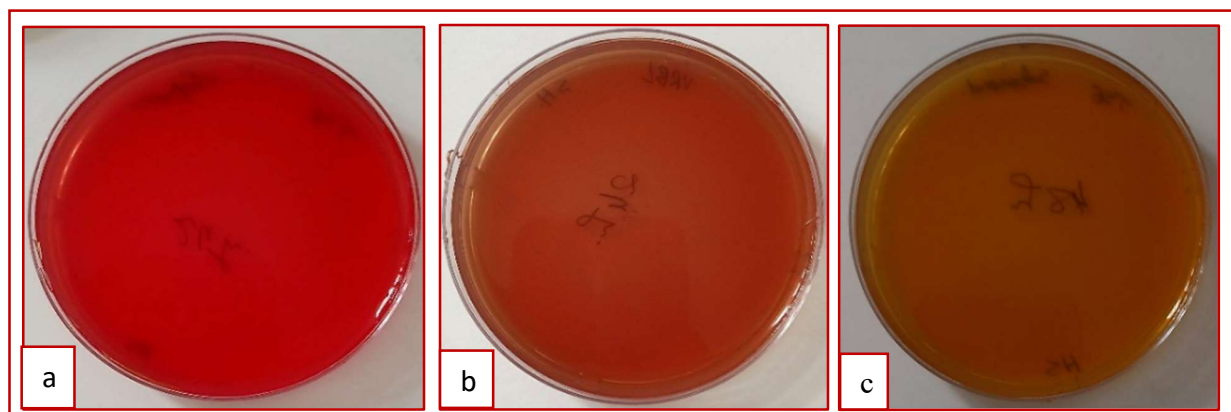


Figure 16 : Qualité microbiologique de la solution hygiénique (Photos originales, 2025).

a : Milieu Chapman ; b : Milieu VRBL ; c : Milieu Sabouraud

III.3.3. Résultats de l'étude clinique

L'ensemble des résultats analytiques concernant les 27 patients (Homme) atteints d'infections du pied diabétique, sont répertoriés sous forme de tableaux récapitulatifs et graphiques pour un meilleur aperçu.

- Répartition des patients selon le sexe

Dans la population étudiée, on constate une prédominance masculine absolue (27 hommes), la totalité des participants sont de sexe masculin, ce qui indique une prédominance masculine absolue. La sex-ratio n'est pas calculable en raison de l'absence totale de femmes (**Figure 17**).

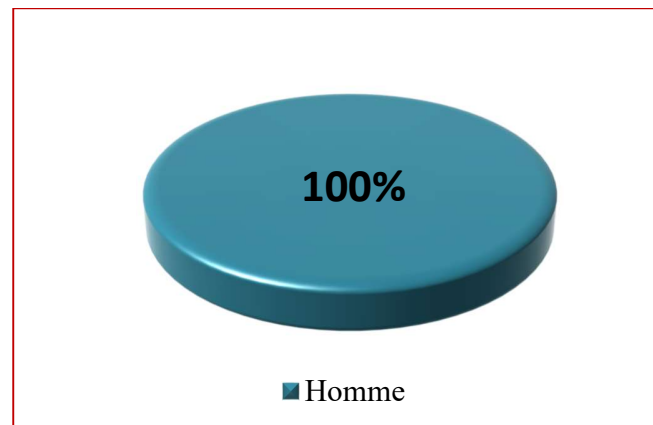


Figure 17 : Répartition selon le sexe.

- Répartition des patients selon la tranche d'âge

Dans le présent travail, les ulcères de pied diabétique touchent une population relativement âgée (plus de 41ans), avec un âge moyen de 65,52 ans et une médiane de 74ans (**Figure 18**).

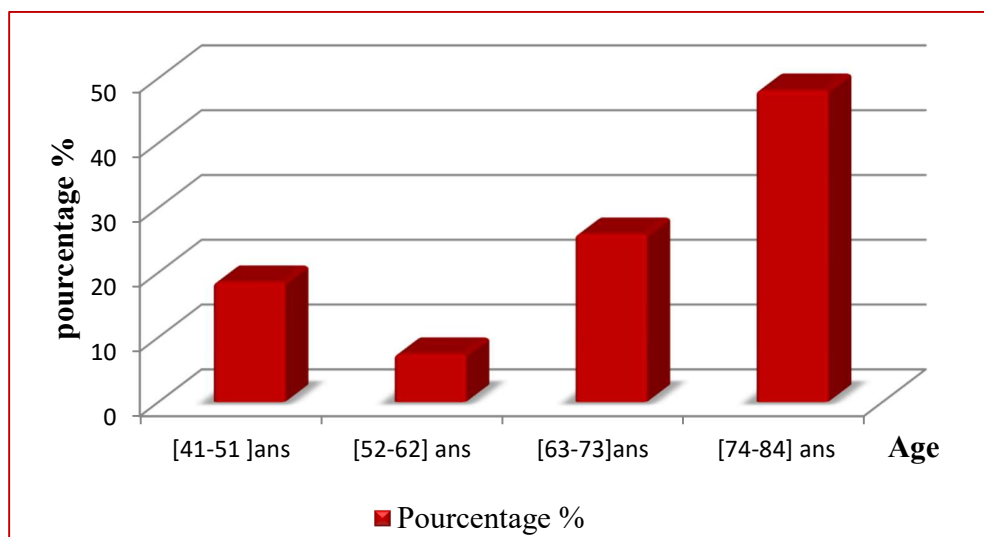


Figure 18 : Répartition selon la tranche d'âge.

- Répartition selon les patients porteurs de *staphylococcus aureus*

Le graphique circulaire montre que 63% des cas sont infectés par des *S. aureus* (Figure 19).

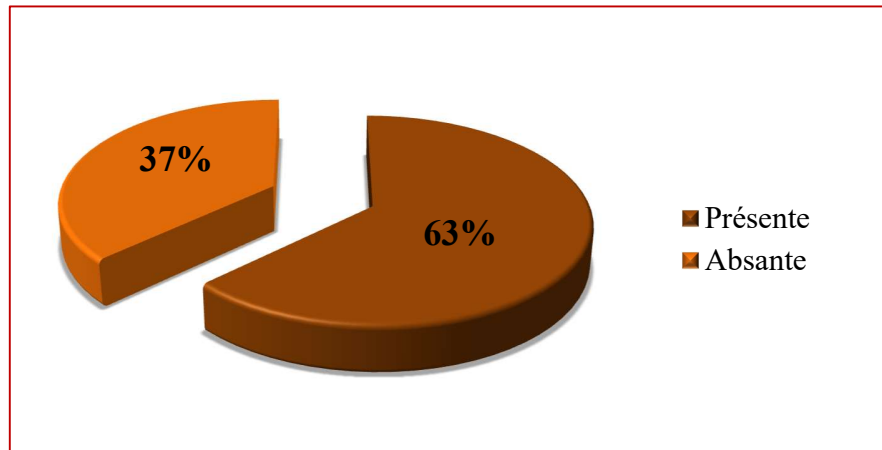


Figure 19 : Répartition selon les patients porteurs de *staphylococcus aureus*.

- Répartition selon le type de prélèvement

Les prélèvements ont été réalisés à partir de deux types de plaies : les ulcères superficiels et les ulcères profonds. Les résultats obtenus révèlent que les ulcères superficiels sont les plus représentés dans cette étude, avec un pourcentage estimé à 85 % (Figure 20).

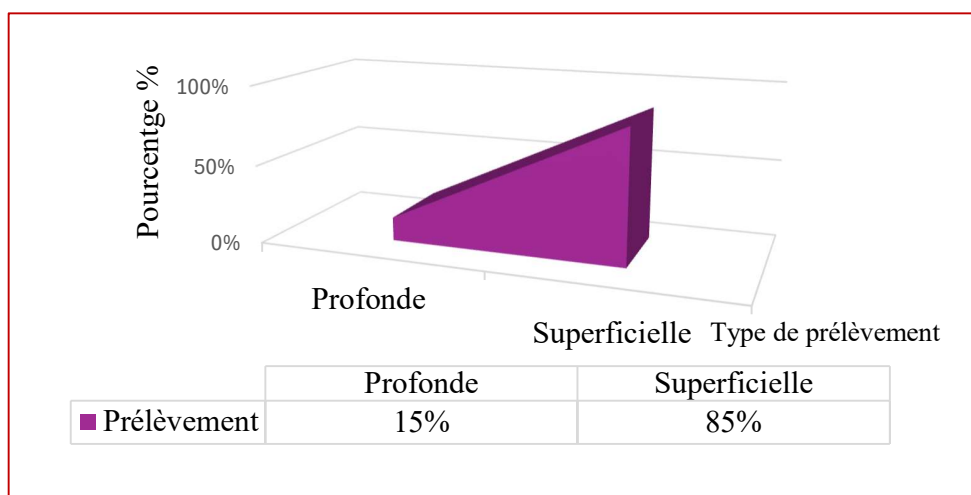


Figure 20 : Répartition selon le type de prélèvement.

- Répartition selon le type de diabète

La **figure 21** montre que 100% des patients sont atteints de diabète de type II, indiquant une prédominance totale de ce type de diabète.

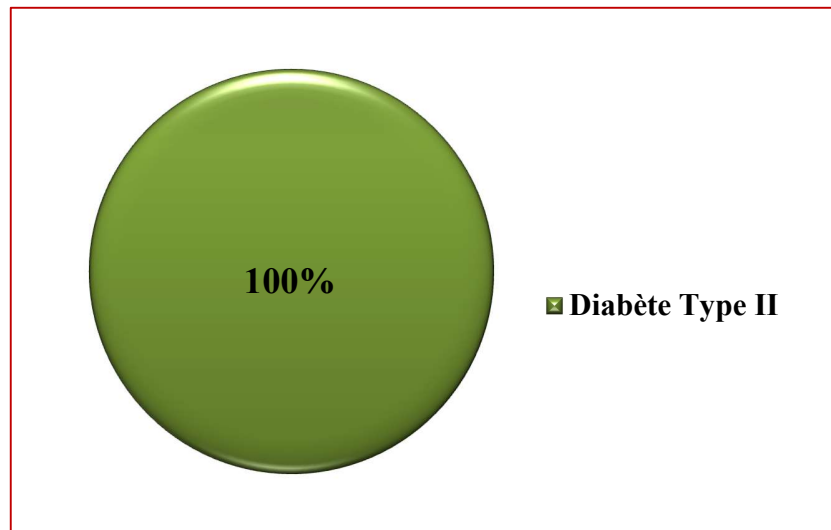


Figure 21 : Répartition selon le type de diabète.

Les souches isolées ont été caractérisées en fonction de leurs colorations de Gram, de leurs caractéristiques morphologiques et de leurs propriétés biochimiques.

Tableau XII : Caractéristiques biochimiques des bactéries isolées d'ulcère du pied diabétique.

Les Souches	<i>Staphylococcus aureus</i>
Formes	Cocci (Sphère) grappe de raisin
Coloration de Gram	+
Oxydase	-
Catalase	+
Coagulase	+

+ : Positive; - : Négative

Dans le présent travail, parmi les 27 patients atteints d'ulcères du pied diabétique, 17 patients d'entre eux étaient infectés par *Staphylococcus aureus*. Cette dernière est aéro-anaérobie facultative à Gram positif. Plusieurs études montrent que *Staphylococcus aureus* se présente comme l'un des agents infectieux clés dans ces infections graves (Shahi et Kumar, 2016 ;Khan et al., 2023; Tirumala et K, 2025; Ismayl et al., 2025).

Selon Mottola et al., (2016) et Ray et al., (2025) ,les principaux facteurs de virulence qui expliquent le rôle clé de *Staphylococcus aureus* dans la pathogenèse des infections du pied diabétique sont :

- ✓ Production d'un large éventail d'enzymes et de toxines qui endommagent les tissus de l'hôte et compromettent la réponse immunitaire.
- ✓ Aptitude à former un biofilm.
- ✓ Une résistance médiatisée par le biofilm est une cause majeure de la persistance des infections et des échecs thérapeutiques, augmentant le risque de complications graves à savoir l'amputation.

Staphylococcus aureus est un isolat bactérien très fréquent dans les infections du pied diabétique, notamment en association avec d'autres souches plus résistantes. Des travaux scientifiques montrent des taux élevés de résistance de ces germes aux antibiotiques, ce qui appelle à une prise en charge thérapeutique alarmante (Djahmi et al., 2013 ; Fetni et al., 2023 ;Ismayl et al., 2025).

III.3.4. Résultats de l'activité antibactérienne

Les estimations de l'activité antimicrobienne sont basées sur une échelle de mesure établie par Mutai et al., (2009), classés par la capacité antimicrobienne en fonction du diamètre de la zone d'inhibition de la croissance microbienne comme suit :

- ✓ Très fortement inhibitrice : (**Diamètre de la zone ≥ 30 mm**).
- ✓ Fortement inhibitrice : (**$21 \text{ mm} \leq \text{Diamètre de la zone} \leq 29 \text{ mm}$**).
- ✓ Modérément inhibitrice : (**$16 \text{ mm} \leq \text{Diamètre de la zone} \leq 20 \text{ mm}$**).

- ✓ Légèrement inhibitrice : ($10 \text{ mm} \leq \text{Diamètre de la zone} < 16 \text{ mm}$).
- ✓ Résistant : ($\text{Diamètre de la zone} < 10 \text{ mm}$).

Les résultats obtenus de l'activité antimicrobienne sur les différents microorganismes (ATCC) vis-à-vis de l'extrait éthanolique sont résumés dans le **Tableau XIII** et la **Figure 22**.

Tableau XIII : Diamètres des zones d'inhibition des souches (ATCC)

	Extrait de <i>Glycyrrhiza glabra</i> L.	Antibiotiques de référence	
		Pénicilline	Gentamicine
Souches ATCC	Diamètre (mm)	Diamètre (mm)	Diamètre (mm)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	$19 \pm 0,3 \text{ mm}$	$35 \pm 0,1 \text{ mm}$	$38 \pm 0,1 \text{ mm}$
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	$29 \pm 0,5 \text{ mm}$	R	$27,5 \pm 0,1 \text{ mm}$
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	$23 \pm 0,1 \text{ mm}$	R	$27 \pm 0,1 \text{ mm}$
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	$26 \pm 0,5 \text{ mm}$	R	$27 \pm 0,1 \text{ mm}$

R : Profil résistant

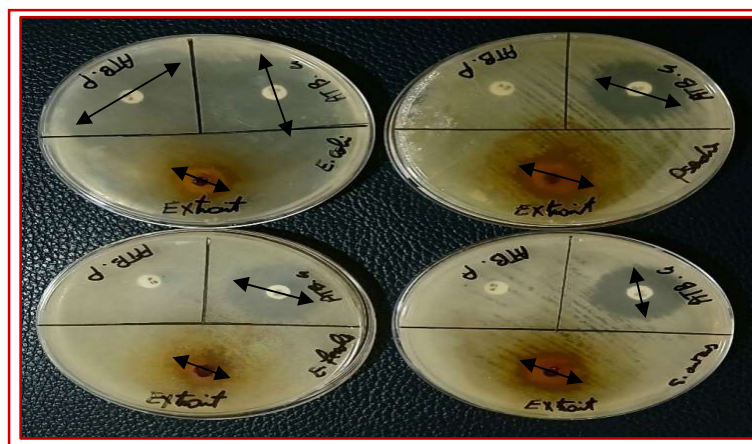


Figure 22 : Activité antimicrobienne de l'extrait éthanolique de *Glycyrrhiza glabra* L.
(Photo originale, 2025).

Après avoir examiné ces résultats, et selon l'échelle de **Mutai *et al.*, (2009)**, l'extrait pure des racines de *Glycyrrhiza glabra* L. présente une activité inhibitrice significative et remarquable sur toutes les souches de référence utilisées, avec des diamètres d'inhibition obtenus supérieurs à 16 mm.

Les résultats de cette étude montrent que l'extrait éthanolique des racines de *Glycyrrhiza glabra* L. présente une bonne activité antibactérienne, équivalente ou supérieure à celle de l'antibiotique testé (gentamicine), même contre des souches résistantes à la pénicilline.

Avec des diamètres de zone d'inhibition allant de $19 \pm 0,3$ mm à $29 \pm 0,5$ mm, l'extrait éthanolique de *Glycyrrhiza glabra* L. a démontré un potentiel antimicrobien significatif contre toutes les souches ATCC examinées. L'abondance de métabolites secondaires en qualités antimicrobiennes, notamment les flavonoïdes, les saponines et les alcaloïdes, pourrait être à l'origine de cette efficacité (**Joshi, 2014**).

La plus forte activité antimicrobienne a été obtenue avec *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ($29 \pm 0,5$ mm), indiquant ainsi que cette souche à Gram positive est fortement sensible à l'extrait des racines de *Glycyrrhiza glabra* L. testé. Il s'agit d'une zone d'inhibition supérieure à celle de l'étude de **Irani *et al.*, (2010)**, qui ont obtenu un diamètre d'inhibition estimé à $16,5 \pm 0,5$ mm, vis-à-vis d'un extrait aqueux. Ainsi l'étude de **Sedighinia *et al.*, (2012)**, qui ont montré une activité inhibitrice estimée à $25,1 \pm 0,2$ mm. L'activité mesurée pour l'extrait de *G. glabra* dans la présente étude était également supérieure à celle de la gentamicine ($27 \pm 0,5$ mm), ce qui pourrait ainsi suggérer que l'extrait de *G. glabra* peut être une alternative thérapeutique naturelle.

Vis-à-vis d'*Enterococcus faecalis* ATCC 29212, l'extrait des racines de *Glycyrrhiza glabra* L., a généré une zone d'inhibition estimée à $26 \pm 0,5$ mm, ce qui est comparable à la gentamicine ($27 \pm 0,1$ mm) et largement supérieure à celle de la pénicilline (R). Ces résultats sont en accord avec ceux publiés par **Sedighinia *et al.*, (2012)**, qui ont trouvé une zone d'inhibition de 24 mm. Ce qui confirme l'efficacité de *G. glabra* vis-à-vis des entérocoques, déjà démontrée dans plusieurs travaux (**Irani *et al.*, 2010; Joshi, 2014**).

En ce qui concerne *Escherichia coli* ATCC 25922, l'activité antibactérienne a également été jugée modérément ($19 \pm 0,3$ mm). Bien que cette valeur soit inférieure à celle des antibiotiques de référence (Gentamicine : $38 \pm 0,1$ mm ; Pénicilline : $35 \pm 0,1$ mm), elle présente un diamètre d'inhibition significatif. Ces résultats corroborent ceux de **Sedighinia et al., (2012)**, qui ont trouvé une zone d'inhibition estimée à ($22,5 \pm 0.2$ mm) à une concentration de 100 mg/ml. La différence peut s'expliquer par la variation des concentrations et des méthodes d'extraction.

Contre *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, l'activité antibactérienne déterminée ($23 \pm 0,1$ mm) avec l'extrait éthanolique des racines de *G.glabra* est également en accord avec les résultats **d'Al Mousawi et al., (2022)**, qui ont enregistré une zone d'inhibition estimée à ($24 \pm 0,1$ mm) pour l'extrait alcoolique, par contre la pénicilline a montré une résistance contre *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, ce résultat est en accord avec ce obtenu dans le présent travail.

Les résultats obtenus de l'activité antimicrobienne sur les différents microorganismes isolés cliniquement vis-à-vis de la solution hygiénique sont résumés dans le **Tableau XIV**.

Tableau XIV : Diamètre des zones d'inhibition des germes pathogènes.

Souches cliniques	Solution hygiénique		Antibiotique de référence (Gentamicine)		Antibiotique de référence (Pénicilline)	
	Diamètres (mm)	Interprétation	Diamètres (mm)	Interprétation	Diamètres (mm)	Interprétation
<i>Staphylococcus aureus</i> 01	14±0.5mm	Li	15±0.1mm	S	00	/
<i>Staphylococcus aureus</i> 02	15±0.1mm	Li	13±0.1mm	I	00	/
<i>Staphylococcus aureus</i> 03	35±0.1mm	Tfi	00	/	00	/
<i>Staphylococcus aureus</i> 04	16±0.1mm	Mi	18±0.3mm	S	00	/
<i>Staphylococcus aureus</i> 05	20±0.1mm	Mi	00	/	00	/
<i>Staphylococcus aureus</i> 06	13±0.3mm	Li	12±0.1mm	R	00	/
<i>Staphylococcus aureus</i> 07	14±0.5mm	Li	24±0.5mm	S	12±0.1mm	R
<i>Staphylococcus aureus</i> 08	15±0.3mm	Li	9±0.1mm	R	00	/
<i>Staphylococcus aureus</i> 09	42.5±0.1mm	Tfi	8±0.1mm	R	00	/
<i>Staphylococcus aureus</i> 10	15±0.1mm	Li	25±0.5mm	S	00	/
<i>Staphylococcus aureus</i> 11	20.5±0.1mm	Mi	15±0.1mm	S	14±0.1mm	R
<i>Staphylococcus aureus</i> 12	27±0.1mm	Fi	25±0.1mm	S	12±0.1mm	R
<i>Staphylococcus aureus</i> 13	44±0.1mm	Tfi	25±0.1mm	S	11±0.1mm	R
<i>Staphylococcus aureus</i> 14	49±0.1mm	Tfi	34±0.3mm	S	10±0.5mm	R
<i>Staphylococcus aureus</i> 15	20±0.5mm	Mi	31±0.5mm	S	18±0.1mm	R
<i>Staphylococcus aureus</i> 16	30±0,1mm	Tfi	26±0,1mm	S	15±0,1mm	S
<i>Staphylococcus aureus</i> 17	20±0,3mm	Mi	15±0.5mm	S	00	R
Tfi : très fortement inhibitrice ; Fi : fortement inhibitrice ; Mi : modérément inhibitrice ; Li : légèrement inhibitrice R : résistante ; I : Intermédiaire ; S : sensible ; / : non déterminé.						

D'après les résultats obtenus, la solution hygiénique présente un effet inhibiteur vis-à-vis de 17 germes pathogènes de *Staphylococcus aureus* isolé cliniquement sur des plaies superficielles et profondes du pied diabétique, avec des zones d'inhibition qui varient entre $13 \pm 0,3$ mm et $49 \pm 0,1$ mm.

Sur un total de 27 prélèvements par écouvillonnage de pus de pied diabétique, 17 souches microbiennes ont été isolées. Parmi ces souches bactériennes, 100% ont été identifiées comme des *Staphylococcus aureus*, indiquant une prédominance absolue de cette espèce dans les infections du pied diabétique.



Figure 23 : Sensibilité des souches *Staphylococcus aureus* (photos originales, 2025).

Une efficacité très importante de la solution hygiénique à base d'extrait éthanolique de *Glycyrrhiza glabra* L. a été démontrée contre les souches pathogènes de *Staphylococcus aureus* isolées de pied des patients diabétiques, avec des zones d'inhibition variant entre $13 \pm 0,3$ mm et $49 \pm 0,1$ mm. Cela indique une forte activité antibactérienne à large spectre, allant de légèrement inhibitrice à très fortement inhibitrice. Ces résultats sont en accord avec ceux publiés par **lakshmi et al., (2016)**, qui ont rapporté que des extraits végétaux (souvent éthanoliques, méthanoliques ou aqueux) à des concentrations comme 50 µg/ml ont inhibé efficacement la croissance de pathogènes isolés des ulcères de pied diabétique.

Les résultats rapportés par **Iqbal et al., (2017)** et **Al Mousawi et al., (2022)**, mettent en évidence une activité antibactérienne variable des extraits éthanoliques de *Glycyrrhiza glabra* L. L' extrait éthanolique a montré une efficacité notable vis-à-vis *Staphylococcus aureus*, avec des diamètres des zones d'inhibition allant de 10 mm à 18 mm selon les concentrations, indiquant une sensibilité modérée à forte dès 1000 mg/ml. Cette activité plus marquée envers les bactéries à Gram positives soutient le rôle de l'éthanol comme excellent solvant d'extraction des composés bioactifs.

En comparaison avec d'autres travaux antérieurs, certaines différences dans les résultats peuvent être attribuées aux méthodes de préparation et d'extraction utilisées, qui influencent directement la concentration des composés bioactifs extraits. Par ailleurs, l'activité antibactérienne de *Glycyrrhiza glabra* L. peut varier selon les conditions environnementales et climatiques propres aux zones de culture de la plante, ce qui affecte la teneur en métabolites secondaires. Ces paramètres doivent être pris en considération pour une interprétation rigoureuse des résultats et pour optimiser l'utilisation thérapeutique de l'extrait (**wahab et al.,2021 ; alsayri et al.,2021**).

D'après les résultats obtenus, l'extrait éthanolique de *Glycyrrhiza glabra* L. présente une forte activité antimicrobienne contre *Staphylococcus aureus*. Cette efficacité ciblée confirme son intérêt en tant qu'un agent naturel actif contre les bactéries à Gram positif. Il constitue ainsi une piste prometteuse pour le développement de traitements phytothérapeutiques.

D'après les tests statistiques réalisés, le résultat est significatif entre l'effet antibactérien de la solution hygiénique, la gentamicine et la pénicilline sur les bactéries isolées cliniquement.

III.3.5. Résultats de la concentration minimale inhibitrice, Bactéricide et bactériostatique (CMI/CMB)

Les résultats des paramètres antibactériens, de la solution hygiénique des racines de la plante *Glycyrrhiza glabra* L. sont consignés dans le **Tableau XV**.

**Tableau XV : Concentration minimale inhibitrice (CMI) et profil
Bactéricide /bactériostatique.**

Souches cliniques	Solution hygiénique dans la microplaque 96 puits		
	CMI	CMB	Interprétation
<i>Staphylococcus aureus</i> 01	15mg /ml	15mg/ml	Profil bactéricide
<i>Staphylococcus aureus</i> 02	3 ,75mg /ml	15mg/ml	Profil bactériostatique
<i>Staphylococcus aureus</i> 03	7,5mg/ml	15mg/ml	Profil bactéricide
<i>Staphylococcus aureus</i> 04	15mg/ml	15mg/ml	Profil bactéricide
<i>Staphylococcus aureus</i> 05	7,5mg/ml	30mg/ml	Profil bactériostatique
<i>Staphylococcus aureus</i> 06	7,5mg/ml	30mg/ml	Profil bactériostatique
<i>Staphylococcus aureus</i> 07	15mg/ml	30mg/ml	Profil bactéricide
<i>Staphylococcus aureus</i> 08	15mg/ml	30mg/ml	Profil bactéricide
<i>Staphylococcus aureus</i> 09	3,75mg/ml	15mg/ml	Profil bactériostatique
<i>Staphylococcus aureus</i> 10	7,5mg/ml	15mg/ml	Profil bactéricide
<i>Staphylococcus aureus</i> 11	7,5mg/ml	15mg/ml	Profil bactéricide
<i>Staphylococcus aureus</i> 12	7,5mg/ml	15mg/ml	Profil bactéricide
<i>Staphylococcus aureus</i> 13	15mg/ml	30mg /ml	Profil bactéricide
<i>Staphylococcus aureus</i> 14	30mg/ml	30mg/ml	Profil bactéricide

La solution hygiénique à base de réglisse élaborée a montré une activité antimicrobienne notable contre toutes les souches cliniques de *Staphylococcus aureus* testées. Les CMI varient de 3,75mg/ ml à 15 mg/ml, et les CMB de 15mg /ml à 30mg/ml. La solution hygiénique a exercé une activité bactéricide sur 71% des souches bactériennes analysées et bactériostatique sur 29% des *S.aureus*.

Ces résultats se diffèrent de ceux de **Sedighinia et al., (2012)**, qui ont obtenu une CMB estimée à 50 mg/ml et une CMI de 35 à 50 mg/ml. En revanche, la solution hygiénique présente un profil principalement bactéricide par rapport à celui trouvé dans les travaux de **Cheurfa et al., 2017**), qui ont démontré que l'extrait aqueux n'a eu aucun effet sur *S. aureus*. Aussi, une autre étude de **Eshghi et al., (2019)**, ont rapporté une CMI et une CMB de 30 mg/ml respectivement confirmant la sensibilité de cette bactérie à l'extrait éthanolique de la réglisse.

La sensibilité plus élevée des germes testés cliniquement et l'abondance de composés bioactifs (flavonoïdes, tanins et polyphénols) peuvent expliquer l'efficacité de notre extrait.

De plus, **Singh et al., (2015)** ont démontré un pouvoir bactéricide de la glabridine avec une CMI estimée à 3,12–25 µg/ml. Concernent les mécanismes d'action et les effets antimicrobiennes, **Wu et al., (2019)** ont démontré que d'autres flavonoïdes de l'extrait de la réglisse perturbent la membrane bactérienne. Ainsi, dans l'étude menée par **Kriker et al., (2014)**, ont découvert que l'extrait de *Glycyrrhiza glabra* L. a inhibé le germe *S. aureus* en empêchant la synthèse des acides nucléiques.

III.3.6. Résultats de l'anti biofilm

III.3.6.1. Résultats de la formation de biofilm par la technique de TCP

Dans le présent travail, il est essentiel de connaître la capacité des souches de *Staphylococcus aureus* isolées cliniquement de former des biofilms. Pour cela, des isolats cliniques ont été testés par la méthode TCP (tissue culture plate) sur une microplaque de 96 puits, considérée comme la technique de référence pour la détection de la formation de biofilm (**Puja, 2018**).

Selon **Malik et al., (2022)**, l'analyse des isolats cliniques de *Staphylococcus aureus* a montré que la méthode TCP permettait de détecter 68 % des souches *Staphylococcus aureus* résistantes à la méticilline productrices de biofilm, contre 55% avec la méthode tubulaire et 46% avec le milieu Congo Red agar. En raison de sa sensibilité, de sa fiabilité et de sa reproductibilité, la méthode TCP est considérée comme la plus performante pour le dépistage de la formation de

biofilm. Et selon **Muhammad *et al.*, (2022)**, la technique de TCP permet simultanément d'évaluer plusieurs souches et de quantifier précisément leur capacité d'adhésion, ce qui en fait une méthode de référence pour les analyses *in vitro*.

Selon **Sushant *et al.*, (2024)**, les résultats obtenus par la méthode de culture tissulaire TCP se traduits par : non producteurs ou faiblement producteurs, modérément producteurs et fortement producteurs de biofilm, selon l'intensité du film observée à l'œil nu.

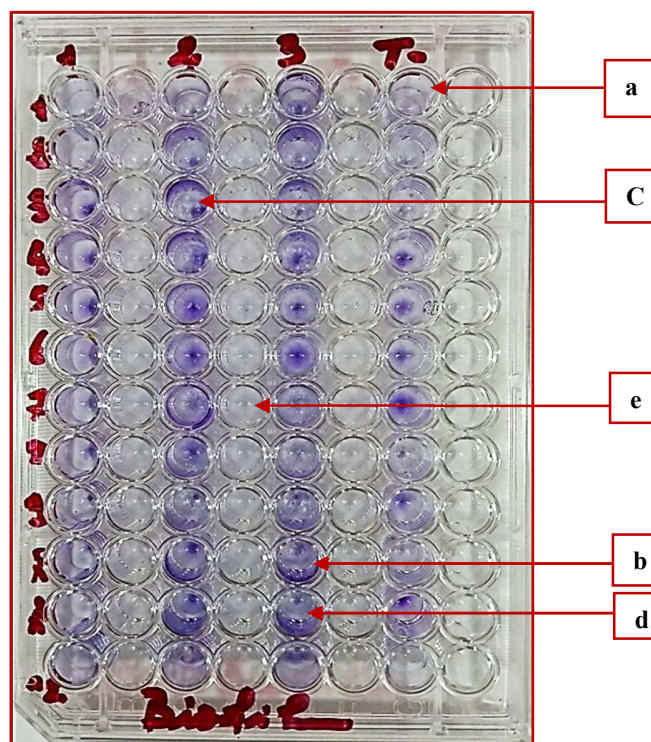


Figure 24 : Evaluation de la production de biofilm « *Staphylococcus aureus* » par la méthode TCP (Photo originale ,2025)

a : témoin négatif ; **b** : témoin positif ; **c** : producteur forte de biofilm ;
d : producteur modéré de biofilm ; **e** : producteur faible de biofilm ; **f** : non producteur de biofilm

Parmi les 12 souches testées, les souches S5 et S6 ont révélé une coloration violette plus intense, témoignant d'une forte capacité de production de biofilm. Ce profil trouvé est préoccupant en contexte clinique, car il est souvent associé à une plus grande résistance aux traitements et à une persistance accrue des infections.

En revanche, les souches S2, S7 et S10 ont présenté une production modérée de biofilm, suggérant un pouvoir adhésif intermédiaire. Ces résultats soulignent l'importance de l'utilisation de la solution hygiénique de soin à base de *Glycyrrhiza glabra* L., dont l'activité antibactérienne pourrait contribuer à limiter la formation de biofilms et à prévenir les infections chroniques du pied diabétique.

III.3.6.2. Evaluation de l'activité antibiofilm sur milieu liquide

Après avoir confirmé que les souches n° 1, 3, 10, 11 et 12 de *Staphylococcus aureus* sont productrices de biofilm, une évaluation de l'activité anti biofilm a été réalisée comme suit :

Cette étape consiste à évaluer l'activité l'anti-biofilm à différentes concentrations de la solution hygiénique. Les résultats attendus sont visualisés sur une microplaque de 96 puits après coloration au cristal violet. L'efficacité du traitement a été déterminée selon l'intensité de coloration cristal violet. Les résultats de cette expérience *in vitro* sont illustrés par la **Figure 25**.

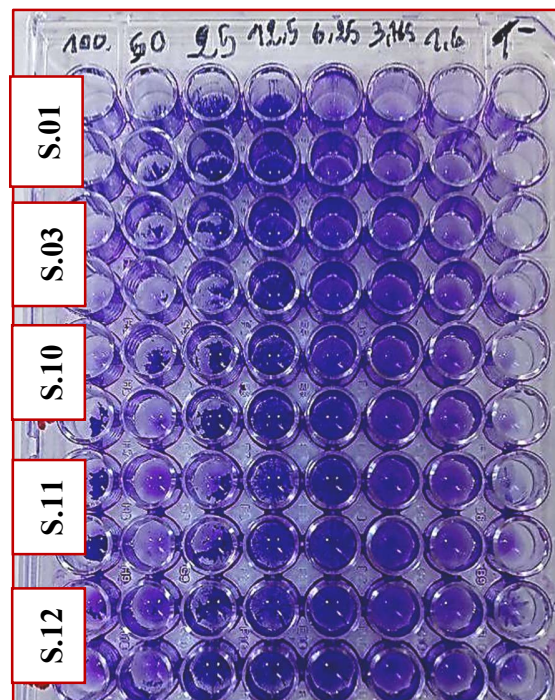


Figure 25 : Réduction de biofilm de *Staphylococcus aureus* (Photo originale, 2025).

Les résultats obtenus dans le cadre de ce travail mettent en évidence une activité anti biofilm significative de la solution hygiénique à base de *Glycyrrhiza glabra* L. contre plusieurs souches de *Staphylococcus aureus* isolées du pied diabétique.

Les essais réalisés ont démontré que la solution hygiénique exerce une inhibition marquée de la formation du biofilm, dépendante de la concentration. Les concentrations les plus élevées (100 % et 50 %) ont entraîné une réduction substantielle de la biomasse du biofilm, comme l'indique la faible intensité de la coloration violette. À l'inverse, les concentrations plus faibles (6,25 %, 3,125 %, etc.) ont présenté une coloration plus intense, témoignant de la persistance partielle du biofilm, bien qu'atténuée en comparaison avec le témoin négatif.

Ces résultats sont similaires à ceux publiés par **Rohinishree, (2016)**, qui ont démontré une activité antibiofilm marquée de l'acide glycyrrhizique, principal composé actif de *Glycyrrhiza glabra* L. contre les souches de *Staphylococcus aureus*. L'inhibition significative a été observée même à de très faibles concentrations (0,025 mg/mL), confirmant ainsi l'efficacité de l'extrait.

Selon **Semenescu et al., (2024)** et **Aladejana et al., (2024)**, confirment l'activité antimicrobienne dose-dépendante des extraits éthanoliques et aqueux de *Glycyrrhiza glabra* L. contre *Staphylococcus aureus*. Les extraits obtenus à partir des racines de cette plante ont montré une inhibition progressive de la croissance bactérienne en fonction des concentrations appliquées, traduisant un effet direct sur la viabilité de cellule bactérienne.

Par ailleurs, **Rahinishree et Negi (2015)**, ont également observé que l'extrait méthanolique de la réglisse a inhibé significativement la formation de biofilm de *Staphylococcus aureus*, confirmant ainsi le potentiel antibiofilm de cette plante.

En outre, dans les travaux d'**Al-Snafi, (2018)**, les extraits racinaires de *Glycyrrhiza glabra* L. montrent une activité anti biofilm contre *Staphylococcus aureus*. Cet effet a été observé avec des extraits hydroalcooliques et éthanoliques. Ces résultats confirment le potentiel thérapeutique de cette plante contre les infections causées par staphylocoques (**Rahinishree et Negi 2015**).

Par ailleurs, selon **Gangwar et al ., (2020)**, le glabridin, autre isoflavonoïde, interfère avec les protéines de surface de *S. aureus*, inhibant ainsi la formation du biofilm. Les extraits éthanoliques des feuilles de réglisse semblent être très efficaces.

En effet, les biofilms de *S. aureus* créent une matrice extracellulaire denses (EPS) qui empêche la pénétration des antibiotiques, limite l'accès des cellules immunitaires, et favorise la survie bactérienne dans un environnement hyperglycémique (**Hindol Ray et al .,2025**).

L'étude d'**Afonso et al., (2021)** et **Semenescu et al., (2024)** suggère que *G. glabra* possède un fort potentiel en tant qu'un agent phytothérapeutique naturel, notamment dans le développement de formulations antiseptiques, ciblant les infections chroniques à biofilm comme celles associées aux plaies du pied diabétique.

III.4. Résultats de l'activité antioxydante

Le DPPH est un radical libre stable choisi pour évaluer l'activité antioxydante de l'extrait éthanolique. Le test de piégeage du radical libre DPPH est simple, rapide et efficace à cause de la grande stabilité du radical (**Bozin et al., 2008**).

Les résultats obtenus lors du test de mesure des pourcentages d'inhibition du radical DPPH sont présentés dans le **Tableau XVI**.

Tableau XVI : Résultats du test de mesure du pourcentage d'inhibitions du radical DPPH.

Concentration [	Pourcentage d'inhibition %	
	L'extrait de <i>Glycyrrhiza glabra</i> L.	Vitamine C
100	48 ,57%	5,71%
250	55%	14,28%
500	65,71%	42,86%
1000	67,53%	51,42%

On remarque que le pourcentage d'inhibition du radicale libre (DPPH) augmente en fonction de la concentration (**Figure 26**).

Selon ces résultats, on constate que l'extrait éthanolique de *Glycyrrhiza glabra* L., la vitamine C (acide ascorbique) exercent une activité inhibitrice significative.

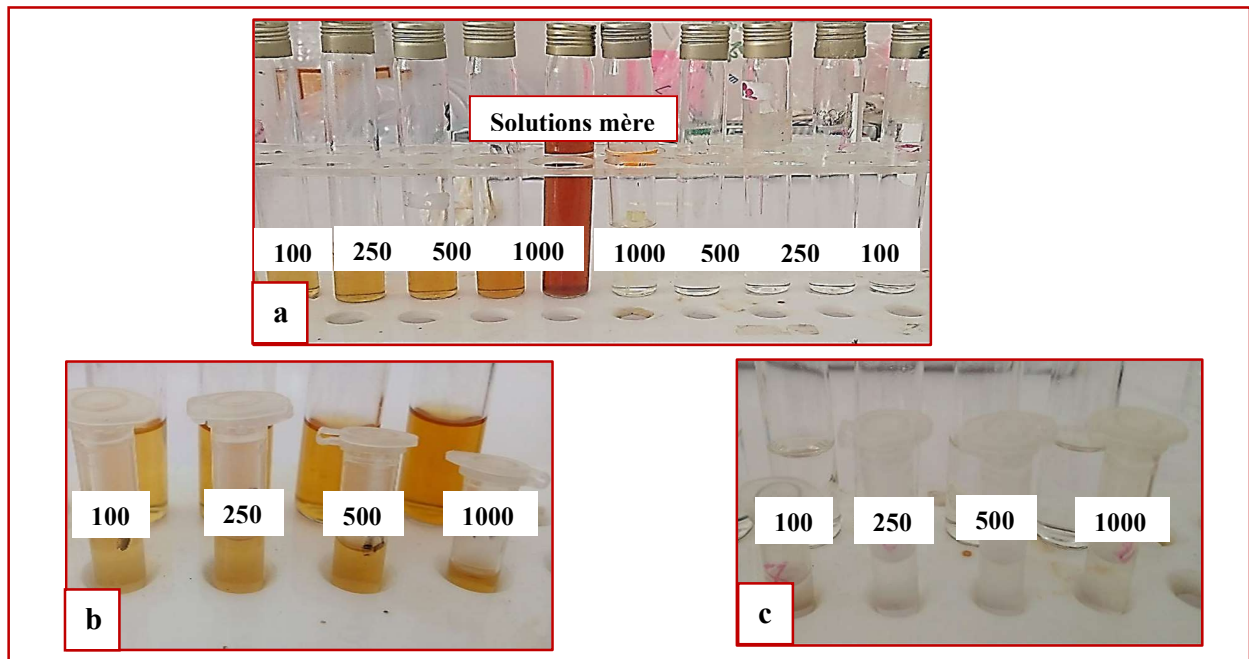


Figure 26 : Résultats de l'activité antioxydante (Photos originales, 2025)

a : Extrait éthanolique et acide ascorbique ; **b :** extrait éthanolique avec DPPH ;
c : Acide ascorbique avec DPPH

- **Résultats d'IC₅₀**

La concentration de l'antioxydant provoquant 50 % d'inhibition est estimée en traçant le pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations. La valeur EC₅₀ est également appelée IC₅₀. Plus la valeur de l'IC₅₀ est faible, plus l'activité antioxydante est élevée (Tomczyk, 2021).

Les graphes suivants montrent le pourcentage d'inhibition de l'activité du DPPH en fonction de la concentration de l'extrait de *Glycyrrhiza glabra* L. et de la vitamine C.

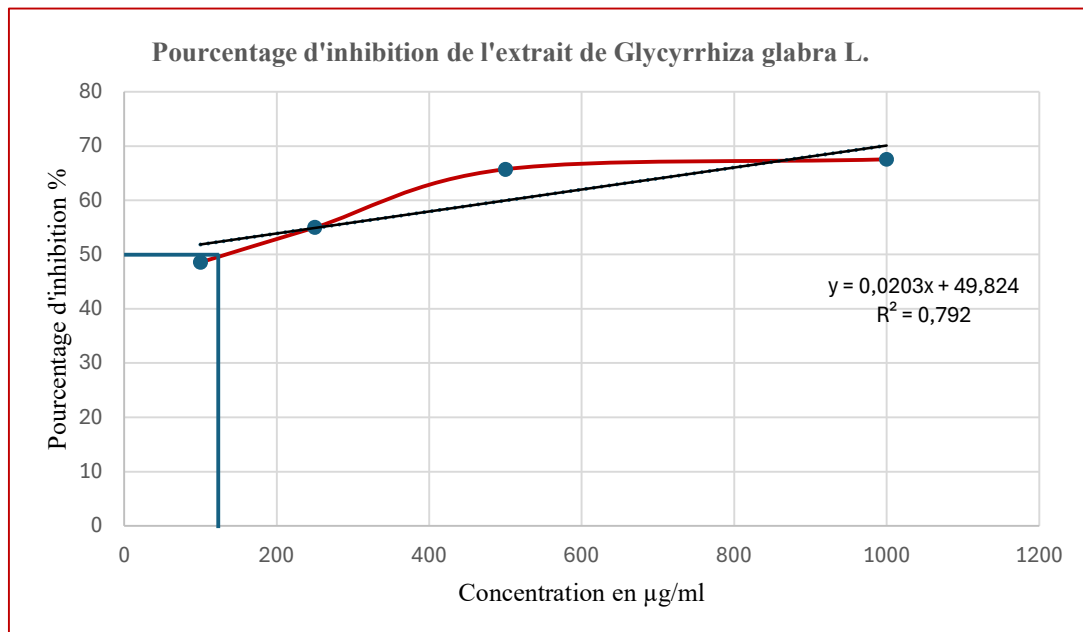


Figure 27 : Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de l'extrait éthanolique des racines de *Glycyrrhiza glabra* L.

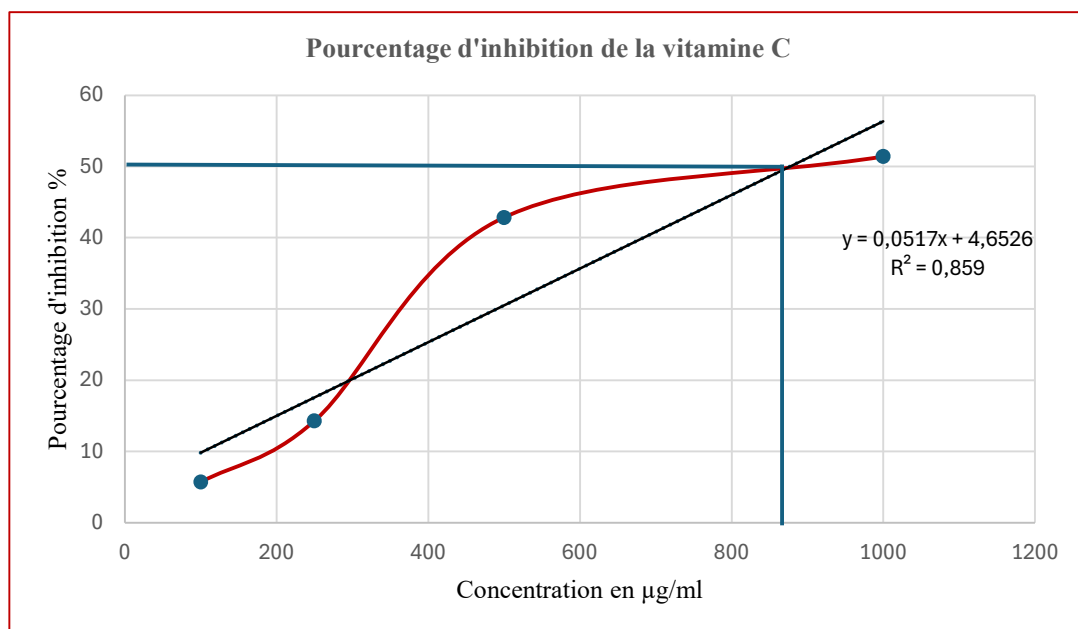


Figure 28 : Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de la vitamine C.

L'activité antioxydante de l'extrait de racine de *Glycyrrhiza glabra* L. a été examinée par le test DPPH et a montré une capacité antiradicalaire avec une IC₅₀ de 133 µg/ml, inférieure à celle de la vitamine C (877 µg/ml) dans nos conditions expérimentales. Cette constatation met en évidence une bonne activité antioxydante, et elle confirme l'intérêt thérapeutique de la réglisse dans le piégeage des radicaux libres.

Ces résultats sont cohérents avec ceux de **Sharma et al. (2013)**, où une valeur IC₅₀ de 80 µg/ml a été documentée pour l'extrait de racine de *G. glabra*, contre 50 µg/ml pour l'acide ascorbique, signalant une activité marquée bien que modérée par rapport à l'étalon. L'existence de flavonoïdes, de tanins, de saponines et d'autres métabolites bioactifs trouvés dans cette recherche est cohérente avec l'hypothèse que ces métabolites sont à l'origine de l'effet antioxydant noté.

Dans une autre étude menée par **Mradu Gupta (2016)**, la valeur IC₅₀ de l'extrait alcoolique a été déterminée à $1,424 \pm 0,013$ mg/ml, tandis que l'extrait aqueux a donné une IC₅₀ de $1,632 \pm 0,052$ mg/ml, les deux valeurs sont supérieures à celle de l'acide ascorbique ($0,879 \pm 0,273$ mg/ml). L'auteur indique que la meilleure activité de l'extrait alcoolique est due à sa teneur plus élevée en flavonoïdes.

Selon les données rapportées par **Chopra et al., (2013)**, les extraits méthanoliques des racines de réglisse ont présenté une IC₅₀ de 359,45 µg/ml, tandis que les travaux d'**Al-Bachir et Al-Adawi (2014)**, ont révélé une IC₅₀ bien plus faible, à 87,15 µg/ml, illustrant ainsi la variabilité interétude liée à la méthode d'extraction, à l'origine botanique du matériel végétal et aux conditions expérimentales.



Conclusion



Conclusion

La plante *Glycyrrhiza glabra* L. à été étudiée pour ses propriétés phytochimiques et thérapeutiques, en particulier pour son potentiel antiseptique dans les soin et l'hygiène des infections du pied diabétique. Les travaux réalisés ont permis de caractériser divers métabolites secondaires et d'évaluer les propriétés pharmacologiques de cette plante.

Le screening phytochimique des molécules bioactives a révélé la présence des saponines, coumarine, tanins galliques, des flavonoïdes, des terpénoïdes, connus pour leur bonne activité antioxydante et antimicrobienne.

Le produit formulé à base d'extrait éthanolique incorporé comme un macérat dans la formulation d'une solution hygiénique a montré une bonne stabilité physico-chimique et une conformité microbiologique, ce qui met en évidence son potentiel thérapeutique dans la prise en charge des infections liées au pied diabétique.

Le criblage du pouvoir antimicrobien de l'extrait éthanolique des racines de *Glycyrrhiza glabra* L. *in vitro* a été réalisé par la méthode de diffusion radiale sur gélose, révélant ainsi une forte activité antibactérienne vis-à-vis de l'ensemble des souches de référence ATCC.

La solution hygiénique formulée a montré un pouvoir antibactérien significatif, avec des zones d'inhibition allant de $13 \pm 0,3$ mm à $49 \pm 0,1$ mm contre les souches cliniques isolées : *Staphylococcus aureus*, témoignant d'un effet antimicrobien marqué. Par ailleurs, Elle a également montré une grande efficacité face aux biofilms formés de *Staphylococcus aureus* ainsi qu'aux souches de référence (ATCC), mettant en évidence son large spectre d'action antimicrobien.

L'étude de l'activité antioxydante par la méthode de réduction des radicaux libres (DPPH) a révélé une activité modérée pour l'extrait éthanolique comparativement avec l'acide ascorbique avec un EC50 égal $133 \mu\text{g/ml}$ et $877 \mu\text{g/ml}$ respectivement. Cette activité antiradicalaire pourrait être due à la présence importante de métabolites secondaires, notamment les polyphénols, les flavonoïdes, les terpénoïdes, les coumarines ...etc.

Au terme de cette étude, on peut conclure que *Glycyrrhiza glabra* L. est une plante prometteuse et riche en substances biologiquement actives, conférant un grand intérêt pharmacologique notamment dans la prévention des infections et des ulcères du pied diabétique.

Conclusion

Cependant, cette étude reste préliminaire et nécessite des études approfondies par des techniques analytiques performantes (HPLC et CG-MS), afin de déterminer les composés chimiques responsables des effets biologiques et pharmacologiques ainsi leur mécanisme d'action.

Une évaluation de la cytotoxicité sur les cellules humaines permis de garantir la sécurité d'utilisation. Le potentiel antioxydant peut être déterminé aussi par des tests complémentaires (ABTS, FRAP, ORAC), mais une meilleure compréhension des effets thérapeutiques proviendrait de l'étude des mécanismes d'action par l'analyse des voies de signalisation (telles que NF- κ B, MAPK ou PI3K/Akt) et de l'expression de gènes ou de protéines importants. De plus, des études d'amarrage moléculaire pourraient modéliser les interactions entre les biomolécules de l'extrait et leurs cibles bactériennes et/ou cellulaires.

De plus, des investigations phytochimiques et biologiques plus approfondies de cette plante sont souhaitables, dont l'objectif est d'isoler, purifier et d'identifier les principes actifs responsables de ces activités biologiques et d'élargir l'arsenal thérapeutique des médicaments à base de plantes médicinales.



Références bibliographiques



Références bibliographiques

A

AFNOR (1986). Recueil de Norme Française, corps gras, graines oléagineuses et produits dérivés. AFNOR Ed., Paris, 527 p

Abdulrazak, A., Ibrahim Bitar, Z., Ayesha Al-Shamali, A., & Ahmed Mobasher, L. (2005). Bacteriological study of diabetic foot infections. *Journal of Diabetes and Its Complications*, 19(3), 138–141. <https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2004.06.001>

Afonso, A. C., Oliveira, D., Saavedra, M. J., Borges, A., & Simões, M. (2021). Biofilms in diabetic foot ulcers: Impact, risk factors and control strategies. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 22, Issue 15). MDPI. <https://doi.org/10.3390/ijms22158278>

Akbar, M. U., Haque, A., Liaquat, S., Schierack, P., & Ali, A. (2022). Biofilm Formation by *Staphylococcus epidermidis* and Its Inhibition Using Carvacrol, 2-Aminobenzimidazole, and 3-Indole Acetonitrile. *ACS Omega*, 8(1), 682–687. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c05893>

Akram, R., Saqib, M., Khalid, B., & Arshad, A. (2015). Effects of Extraction Media and Techniques on the Antioxidant Properties and Recovery of Phenolics from Roots of *Glycyrrhiza glabra*. *Journal of Molecular Pathophysiology*, 4(4), 138. <https://doi.org/10.5455/jmp.20151215121630>

Al Mousawi, H. G., Saleh, R. H., Omran, A. M., Al Sa'ady, A. T., & Ghasemian, A. (2022). Chemical Analysis and Antibacterial Activity of *Glycyrrhiza glabra* roots. *Egyptian Journal of Chemistry*, 65(10), 667–672. <https://doi.org/10.21608/EJCHEM.2022.117422.5294>

Al-Bachir, M., & Al-Adawi, M. (2014). Comparative effect of irradiation and heating on the microbiological properties of licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) root powders. *International Journal of Radiation Biology*, 91(1), 112–116. <https://doi.org/10.3109/09553002.2014.944284>

Al-Snafi, A. E. (2018). *Glycyrrhiza glabra*: A phytochemical and pharmacological review. www.iosrphr.org

Aladejana, E. B., Adelabu, O. A., Aladejana, A. E., & Ndlovu, S. I. (2024). Antimicrobial properties of alternative medicines used in the management of infections in diabetic patients: A comprehensive review. In *Pharmacological Research - Modern Chinese Medicine* (Vol. 11). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.prmcm.2024.100432>

Références bibliographiques

- Alsayari, A., Bin Muhsinah, A., Almaghaslah, D., Annadurai, S., & Wahab, S. (2021).** Pharmacological Efficacy of Ginseng against Respiratory Tract Infections. In *Molecules* (Vol. 14, Issue 2, pp. 738–754). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/molecules>
- Amin Mir Prince Mohammad, M., Amin Mir, M., Sawhney, S., & Jassal, M. (2013).** Qualitative and quantitative analysis of phytochemicals of *Taraxacum officinale* 2013 Wudpecker Journals Qualitative and quantitative analysis of phytochemicals of *Taraxacum officinale*. In *Wudpecker Journal of Pharmacy and Pharmacology* (Vol. 2, Issue 1). <https://www.researchgate.net/publication/281362336>
- Anan, M. M., Abu-El-Azayem, A. K., & Elkashef, S. M. (2024).** Comparison of two invitro phenotypic methods (Tissue Culture plate and Congo Red Agar) for Detection of Biofilm Formation by Enterococci. *Egyptian Journal of Medical Microbiology*, 33(1), 19-23.
- Archana, I., & Vijayalakshmi, K. (2016).** Preliminary phytochemical screening and in vitro free radical scavenging activity of root extracts of *Glycyrrhiza glabra* L. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 9(6), 85–90. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2016.v9i6.13675>
- Asl, M. N., & Hosseinzadeh, H. (2008).** Review of Pharmacological Effects of *Glycyrrhiza* sp. and its Bioactive Compounds. *Phytother. Res*, 22, 709–724. <https://doi.org/10.1002/ptr>

B

- Babich, O., Ivanova, S., Ulrikh, E., Popov, A., Larina, V., Frolov, A., & Prosekov, A. (2022).** Study of the Chemical Composition and Biologically Active Properties of *Glycyrrhiza glabra* Extracts. *Life*, 12(11). <https://doi.org/10.3390/life12111772>
- Bader, M. S. (2008).** Diabetic Foot Infection. www.aafp.org/afp.
- Bakker, K., Apelqvist, J., Lipsky, B. A., Van Netten, J. J., & Schaper, N. C. (2016).** The 2015 IWGDF guidance documents on prevention and management of foot problems in diabetes: Development of an evidence-based global consensus. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 32, 2–6. <https://doi.org/10.1002/dmrr.2694>
- BALHAJ, O. , E. A. ,& O. (2016).** antibiogramme par puits. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 4(3), 12–22.
- Bahmani, M., Rafieian-Kopaei, M., Sarrafchi, A., Shirzad, H., Shahinfard, N., Shahsavari, S., Baharvand-Ahmadi, B., Taherikalani, M., & Ghafourian, S. (2015).** Pharmaceutical, phy-

Références bibliographiques

tochemical, and economical potentials of *Glycyrrhiza glabra* L: A review. Article in Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences, 8, 4. www.jchps.com

Batiha, G. E. S., Beshbishy, A. M., El-Mleeh, A., Abdel-Daim, M. M., & Devkota, H. P. (2020). Traditional uses, bioactive chemical constituents, and pharmacological and toxicological activities of *Glycyrrhiza glabra* L. (fabaceae). In *Biomolecules* (Vol. 10, Issue 3). MDPI. <https://doi.org/10.3390/biom10030352>

Bashir, F., & Associate, R. (2019). I nternational Journal of Scientific Research and Reviews Asl-us-Sus (*Glycyrrhiza glabra* L.)-A Potent Unani Drug. *Scientific Research and Reviews*, 8(2), 1575–1596. <https://www.ijssr.org>

Békro, Y.-A., MamyrbekovaBékro, J. A., Boua, B. B., Tra Bi, F. H., &Éhilé, E. E. (2007). Étude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthiana* Étude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthiana* (Baill.) Herend. etZarucchi (*Caesalpinia*ceae). In *Sci. Nat* (Vol. 4).

Beliffa Samira. (2014). Evaluation de la formation du biofilm des souche de *klebsiella pneumoniae* isolée de dispositifs médicaux CHU Tlemcen. Université Abou bekr Belkaid Tlemcen.

Bernardo-Bermejo, S., Sánchez-López, E., Castro-Puyana, M., Benito-Martínez, S., Lucio-Cazaña, F. J., & Marina, M. L. (2020). A non-targeted capillary electrophoresis-mass spectrometry strategy to study metabolic differences in an in vitro model of high-glucose induced changes in human proximal tubular HK-2 cells. *Molecules*, 25(3). <https://doi.org/10.3390/molecules25030512>

Bisht, D., Rashid, M., Arya, R. K. K., Kumar, D., Chaudhary, S. K., Rana, V. S., & Sethiya, N. K. (2022). Revisiting liquorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) as anti-inflammatory, antivirals and immunomodulators: Potential pharmacological applications with mechanistic insight. In *Phyto-medicine Plus* (Vol. 2, Issue 1). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.phyplu.2021.100206>

Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I., Goran, A., & Igic, R. (2008). Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae). *Food Chemistry*, 111(4), 925–929. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.04.071>

Références bibliographiques

C

- Chavant, P., Gaillard-Martinie, B., Talon, R., Hébraud, M., & Bernardi, T. (2007).** A new device for rapidevaluation of biofilm formation potential by bacteria. *Journal of Microbiological Methods*, 68(3), 605–612. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2006.11.010>
- Chen, R. Y., Shi, J. J., Liu, Y. J., Yu, J., Li, C. Y., Tao, F., Cao, J. F., Yang, G. J., & Chen, J. (2024).** The State-of-the-Art Antibacterial Activities of Glycyrrhizin: A Comprehensive Review. In *Microorganisms* (Vol. 12, Issue 6). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/microorganisms12061155>
- Cheurfa, M., Allem, R., Zabel, K., Aichouni, W., & Medjkane, M. (2017).** The effects of Glycyrrhizaglabra L. and Zizyphus lotus L. root extracts on somehumanpathogenicbacteria. *Phytotherapie*, 1–7. <https://doi.org/10.1007/s10298-017-1116-1>
- Chopra, P. K. P. G., Gaitry Chopra, P. K. P., Saraf, B. D., Inam, F., & Deo, S. S. (2013).** Antimicrobial and antioxidant activities of methanol extract roots of Glycyrrhiza glabra and HPLC analysis. In *Article in International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. <https://www.researchgate.net/publication/262925651>
- Chouitah, O., Meddah, B., Aoues, A., & Sonnet, P. (2011).** Chemical composition and antimicrobial activities of the essential oil from glycyrrhiza glabra leaves. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 14(3), 284–288. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2011.10643935>
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) ,(2020).**, «Standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale». 8emeédition, Algérie,.
- Coşkun, B., Ayhan, M., Ulusoy, S., & Guner, R. (2024).** Bacterial Profile and Antimicrobial Resistance Patterns of Diabetic Foot Infections in a Major Research Hospital of Turkey. *Antibiotics*, 13(7). <https://doi.org/10.3390/antibiotics13070599>

D

- Dastagir1, G., & Rizvi2, M. A. (2016).** Glycyrrhiza glabra L. (Liquorice). In *Pak. J. Pharm. Sci* (Vol. 29, Issue 5).
- Djahmi, N., Messad, N., Nedjai, S., Moussaoui, A., Mazouz, D., Richard, J. L., Sotto, A., & Lavigne, J. P. (2013).** Molecular epidemiology of staphylococcus aureus strains isolated from

Références bibliographiques

inpatients with infected diabetic foot ulcers in an Algerian University Hospital. *Clinical Microbiology and Infection*, 19(9). <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12199>

Do Socorro Chagas, M. S., Behrens, M. D., Moragas-Tellis, C. J., Penedo, G. X. M., Silva, A. R., & Gonçalves-De-Albuquerque, C. F. (2022). Flavonols and Flavones as Potential anti-Inflammatory, Antioxidant, and Antibacterial Compounds. In *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* (Vol. 2022). Hindawi Limited. <https://doi.org/10.1155/2022/9966750>

Dohou, N., & Yamni, K. (2003). Screening phytochimique d'une endémique ibéro-marocaine, *Thymelaecalythroides*. <https://www.researchgate.net/publication/285309509>

Donlan, R. M., & Costerton, J. W. (2002). Biofilms: Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. In *Clinical Microbiology Reviews* (Vol. 15, Issue 2, pp. 167–193). <https://doi.org/10.1128/CMR.15.2.167-193.2002>

Du, F., Ma, J., Gong, H., Bista, R., Zha, P., Ren, Y., Gao, Y., Chen, D., Ran, X., & Wang, C. (2022). Microbial Infection and Antibiotic Susceptibility of Diabetic Foot Ulcer in China: Literature Review. *Frontiers in Endocrinology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.881659>

Dunyach-Remy, C., Essebe, C. N., Sotto, A., & Lavigne, J. P. (2016). *Staphylococcus aureus* toxins and diabetic foot ulcers: Role in pathogenesis and interest in diagnosis. In *Toxins* (Vol. 8, Issue 7, pp. 1–20). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/toxins8070209>

E

Eghlima, G., Kheiry, A., Sanikhani, M., Hadian, J., Aelaei, M., & Ebrahimi, S. N. (2020). Investigation of Phytochemical Variability, Antioxidant Activity and Ecological Conditions of Native Iranian *Glycyrrhiza glabra* L. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, 7(4), 387–400. <https://doi.org/10.22059/ijhst.2020.287117.314>

Eshghi, N., Ghasemian Karyak, O., Malekirad, A., Dehnamaki, F., Abdi, S., Shiri Malekabadi, E., & Rezaei, M. (2019). Antibacterial Activity of *Glycyrrhiza Glabra* Roots against Food-borne Pathogenic Bacteria. *West Indian Medical Journal*. <https://doi.org/10.7727/wimj.2016.545>

Esmaili, H., Karami, A., Hadian, J., Saharkhiz, M. J., & Nejad Ebrahimi, S. (2019). Variation in the phytochemical contents and antioxidant activity of *Glycyrrhiza glabra* populations

Références bibliographiques

collected in Iran. *Industrial Crops and Products*, 137, 248–259.

<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.05.034>

Esmail Al-Snafi, A., & Author, C. (2018). Glycyrrhiza glabra: A phytochemical and pharmacological review. In *IOSR Journal Of Pharmacy* www.iosrphr.org (Vol. 8, Issue 6). www.iosrphr.org

F

Fetni, S., Ouahab, A., & Hamlaoui, F. (2023). Bacteriological profile and frequency of antibiotic resistance in the infected diabetic foot. *Cellular and Molecular Biology*, 69(5), 143–149. <https://doi.org/10.14715/cmb/2023.69.5.22>

Fukui, H., Goto, K., & Tabata, M. (1988). Two Antimicrobial Flavanones from the Leaves of *Glycyrrhiza glabra*. In *Chem. Pharm. Bull* (Vol. 36, Issue 10).

G

Ganfon, H., Houvohessou, J. P., Assanhou, A. G., Bankole, H. S., & Gbenou, J. (2019). Antibacterial activity of ethanolic extract and fractions of *Anogeissus leiocarpa* (DC) Guill. Et Perr. (Combretaceae). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 13(2), 643–651. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v13i2.6>

Gangwar, B., Kumar, S., & Darokar, M. P. (2020). Glabridin Averts Biofilms Formation in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* by Modulation of the Surfaceome. *Frontiers in Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01779>

Gherardi, G. (2023). *Staphylococcus aureus* Infection: Pathogenesis and Antimicrobial Resistance. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 24, Issue 9). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/ijms24098182>

Gonzalez-Henao, S., & Schrenk, M. O. (2025). An astrobiological perspective on microbial biofilms: their importance for habitability and production of detectable and lasting biosignatures. In *Applied and Environmental Microbiology* (Vol. 91, Issue 3). American Society for Microbiology. <https://doi.org/10.1128/aem.01778-24>

Guo, Y. N., He, K. R., Liang, S. S., Mou, R. W., Lu, M. H., He, Y. M., & Tang, L. P. (2024). The effect and mechanism of volatile oil emulsion from leaves of *Clausena lansium* (Lour.)

Références bibliographiques

Skeels on *Staphylococcus aureus* in vitro. *Frontiers in Microbiology*, 15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1376819>

Gupta, V. K., Fatima, A., Faridi, U., Negi, A. S., Shanker, K., Kumar, J. K., Rahuja, N., Luqman, S., Sisodia, B. S., Saikia, D., Darokar, M. P., & Khanuja, S. P. S. (2008). Antimicrobial potential of *Glycyrrhiza glabra* roots. *Journal of Ethnopharmacology*, 116(2), 377–380. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.11.037>

Gupta, M., Karmakar, N., Sasmal, S., Chowdhury, S., & Biswas, S. (2016). Free radical scavenging activity of aqueous and alcoholic extracts of *Glycyrrhiza glabra* Linn. measured by ferric reducing antioxidant power (FRAP), ABTS bleaching assay ($\hat{I}\pm$ TEAC), DPPH assay and peroxy radical antioxidant assay. *International Journal of Pharmacology and Toxicology*, 4(2), 235–240. <https://doi.org/10.14419/ijpt.v4i2.6578>

H

Harper, D. R., Parracho, H. M. R. T., Walker, J., Sharp, R., Hughes, G., Werthén, M., Lehman, S., & Morales, S. (2014). Bacteriophages and biofilms. *Antibiotics*, 3(3), 270–284. <https://doi.org/10.3390/antibiotics3030270>

Hasanein, P. (2011). Glabridin as a major active isoflavan from *Glycyrrhiza glabra* (licorice) reverses learning and memory deficits in diabetic rats. *Acta Physiologica Hungarica*, 98(2), 221–230. <https://doi.org/10.1556/APhysiol.98.2011.2.14>

Husain, A., & Ahmad, A. (2015). Quantitative Analysis of Total Phenolic, Flavonoid Contents and HPTLC Fingerprinting for Standardization of *Glycyrrhiza glabra* Linn. Roots. *Herbal Medicine: Open Access*, 1(1). <https://doi.org/10.21767/2472-0151.10001>

I

Iqbal, Z., Zhang, H., Ping, H. Y., Ghaffar, A., Mumtaz, M., & Liaqat, L. (2017). Antioxidant and Antibacterial Activity of Organic Extracts of Roots of <i>Glycyrrhiza Glabra</i> Linn</i>; Plant, 5(4), 68. <https://doi.org/10.11648/j.plant.20170504.12>

Irani, M., Sarmadi, M., Bernard, F., Ebrahimi, H., & Bazarnov, H. S. (2010). Leaves Antimicrobial Activity of *Glycyrrhiza glabra* L. In Shaheed Beheshti University of Medical Sciences and Health Services Iranian Journal of Pharmaceutical Research (Vol. 9, Issue 4).

Références bibliographiques

Isbrucker, R. A., & Burdock, G. A. (2006). Risk and safety assessment on the consumption of Licorice root (*Glycyrrhiza* sp.), its extract and powder as a food ingredient, with emphasis on the pharmacology and toxicology of glycyrrhizin. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 46(3), 167–192. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2006.06.002>

Ismayıl, A., Çolak, B., Yormaz, S., Türk Dağı, H., & Maçın, S. (2025). Investigation Of Causing Microorganisms And Antimicrobial Sensitivity Patterns In Diabetic Foot Wounds. *Genel Tıp Dergisi*, 35(2), 276–284. <https://doi.org/10.54005/geneltip.1586166>

J

Joshi, M. D. (2014). *Glycyrrhiza glabra* (Liquorice)-a potent medicinal herb. *International Journal of Herbal Medicine*, 2(2), 132–136. <https://www.researchgate.net/publication/305465442>

K

Kandemir, Ö., Akbay, E., Şahin, E., Milcan, A., & Gen, R. (2007). Risk factors for infection of the diabetic foot with multi-antibiotic resistant microorganisms. *Journal of Infection*, 54(5), 439–445. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2006.08.013>

Khan, D., Zeb, M., Khattak, S. K., Shah, A. A., Abdullah, M., & Bilal, M. (2023). Molecular characterization and antibiotic susceptibility pattern of bacterial strains isolated from diabetic foot ulcers. *Endocrine and Metabolic Science*, 12. <https://doi.org/10.1016/j.endmts.2023.100136>

Khomri, A. El, Iggar, M., Mjabber, A., Haraj, N. E., El Aziz, S., & Chadli, A. (2024). Le protocole de l'antibiothérapie du pied diabétique infecté. *Revue des Maladies Infectieuses* 1.1 (2024): 73-78.

Kim, J. Y., Park, S. J., Yun, K. J., Cho, Y. W., Park, H. J., & Lee, K. T. (2008). Isoliquiritigenin isolated from the roots of *Glycyrrhiza uralensis* inhibits LPS-induced iNOS and COX-2 expression via the attenuation of NF-κB in RAW 264.7 macrophages. *European Journal of Pharmacology*, 584(1), 175–184. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2008.01.032>

Kriker Soulef, Y. abdelouahab, B. D. (2014). Effect of glycosides extract of the medicinal plant *Glycyrrhiza glabra* L. from the region of Mlilli (southeast of Algeria) on the growth of some hu-

Références bibliographiques

man pathogenic bacteria. Journal of Scientific and Innovative Research, 3(1), 28–34.
www.jsirjournal.com

Kumar, S., & Dora, B. B. (2017). A Critical Appraisal on Phytochemical Constituents and Therapeutic Effect of Yashtimadhu (Glycyrrhiza glabra).
<https://www.researchgate.net/publication/331114073>

L

Larkin, E. A., Carman, R. J., Krakauer, T., & Stiles, B. G. (2009). Staphylococcus aureus: The Toxic Presence of a Pathogen Extraordinaire. In Current Medicinal Chemistry (Vol. 16).

Lavery, L. A., Davis, K. E., Berriman, S. J., Braun, L., Nichols, A., Kim, P. J., Margolis, D., Peters, E. J., & Attinger, C. (2016). WHS guidelines update: Diabetic foot ulcer treatment guidelines. Wound Repair and Regeneration, 24(1), 112–126. <https://doi.org/10.1111/WRR.12391>

Lipsky, B. A., Berendt, A. R., Cornia, P. B., Pile, J. C., Peters, E. J. G., Armstrong, D. G., Deery, H. G., Embil, J. M., Joseph, W. S., Karchmer, A. W., Pinzur, M. S., & Senneville, E. (2012). 2012 infectious diseases society of America clinical practice guideline for the diagnosis and treatment of diabetic foot infections. In Clinical Infectious Diseases (Vol. 54, Issue 12).
<https://doi.org/10.1093/cid/cis346>

M

Malik, N., Bisht, D., Aggarwal, J., & Rawat, A. (2022). Phenotypic Detection of Biofilm Formation in Clinical Isolates of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus. Asian Journal of Pharmaceutical Research and Health Care, 14(1), 43–47.
https://doi.org/10.4103/ajprhc.ajprhc_15_21

Martins, N., Barros, L., Dueñas, M., Santos-Buelga, C., & Ferreira, I. C. F. R. (2015). Characterization of phenolic compounds and antioxidant properties of Glycyrrhiza glabra L. rhizomes and roots. RSC Advances, 5(34), 26991–26997. <https://doi.org/10.1039/c5ra03963k>

Mathieu, J. (2014). Evaluation de l'apport d'un réseau dans la prévention du pied diabétique : bilan de l'action "Pied diabétique" menée par le réseau Diabcoeur en 2004. <https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01731733v1>

Références bibliographiques

Mohammedi Z. (2013). Etude photochimique et activités biologiques de quelques plantes médicinales de la région nord et sud-ouest de l'Algérie : Biologie. Thèse de doctorat Chimie thérapeutique, université Abou bakr belkaid, Telemcen, 116p.

Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. sci. technol*, 26(2), 211-219.

Mottola, C., Matias, C. S., Mendes, J. J., Melo-Cristino, J., Tavares, L., Cavaco-Silva, P., & Oliveira, M. (2016). Susceptibility patterns of *Staphylococcus aureus* biofilms in diabetic foot infections. *BMC Microbiology*, 16(1). <https://doi.org/10.1186/s12866-016-0737-0>

Moya-Salazar, J., Chamana, J. M., Porras-Rivera, D., Goicochea-Palomino, E. A., Salazar, C. R., & Contreras-Pulache, H. (2023). Increase in antibiotic resistance in diabetic foot infections among peruvian patients: a single-center cross-sectional study. *Frontiers in Endocrinology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1267699>

Moyes, R. B., Reynolds, J., & Breakwell, D. P. (2009). Differential staining of bacteria: Gram stain. In *Current Protocols in Microbiology* (Issue SUPPL. 15). <https://doi.org/10.1002/9780471729259.mca03cs15>

Mutai, C., Bii, C., Vagias, C., Abatis, D., & Roussis, V. (2009). Antimicrobial activity of *Acacia mellifera* extracts and lupane triterpenes. *Journal of Ethnopharmacology*, 123(1), 143–148. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.02.007>

N

Nazari, M., Shokoohizadeh, L., & Taheri, M. (2025). Natural products in the treatment of diabetic foot infection. In *European journal of medical research* (Vol. 30, Issue 1, p. 8). <https://doi.org/10.1186/s40001-024-02255-y>

Nazzal, R. Q., & Addai, Z. R. (2023). Antioxidants and antibacterial activity of *Glycyrrhiza glabra* extract. *Bionatura*, 8(1). <https://doi.org/10.21931/RB/2023.08.01.7>

Neopane, Puja., Nepal, H. P., Shrestha, R., Uehara, O., & Abiko, Y. (2018). In vitro biofilm formation by *Staphylococcus aureus* isolated from wounds of hospital-admitted patients and their association with antimicrobial resistance. *International Journal of General Medicine*, 11, 25–32. <https://doi.org/10.2147/IJGM.S153268>

Références bibliographiques

Noor, S., Zubair, M., & Ahmad, J. (2015). Diabetic foot ulcer - A review on pathophysiology, classification and microbial etiology. In *Diabetes and Metabolic Syndrome: Clinical Research and Reviews* (Vol. 9, Issue 3, pp. 192–199). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2015.04.007>

O

Omar, H. R., Komarova, I., Abdelmalak, H. D., Yerramadha, M. R., Ali, Y., Ghonemi, M., Rashad, R., Fathy, A., Helal, E., & Camporesi, E. M. (2012). Licorice abuse: Time to send a warning message. *Therapeutic Advances in Endocrinology and Metabolism*, 3(4), 125–138. <https://doi.org/10.1177/2042018812454322>

Oraibi, A. I., Dawood, A. H., Trabelsi, G., Mahamat, O. B., Chekir-Ghedira, L., & Kilani-Jaziri, S. (2025). Antioxidant activity and selective cytotoxicity in HCT-116 and WI-38 cell lines of LC-MS/MS profiled extract from *Capparis spinosa* L. *Frontiers in Chemistry*, 13. <https://doi.org/10.3389/fchem.2025.1540174>

P

Pastorino, G., Cornara, L., Soares, S., Rodrigues, F., & Oliveira, M. B. P. P. (2018). Liquorice (*Glycyrrhiza glabra*): A phytochemical and pharmacological review. In *Phytotherapy Research* (Vol. 32, Issue 12, pp. 2323–2339). John Wiley and Sons Ltd. <https://doi.org/10.1002/ptr.6178>

Percival, S. L., Malic, S., Cruz, H., & Williams, D. W. (2011). Introduction to Biofilms (pp. 41–68). https://doi.org/10.1007/978-3-642-21289-5_2

Perrier, A., Vuillerme, N., Payan, Y., & Ha Van, G. (2016). Le risque d'ulcération du pied diabétique, de la physiopathologie à la prédiction du risque. *Medecine Des Maladies Metaboliques*, 10(6), 519–525. [https://doi.org/10.1016/S1957-2557\(16\)30165-1](https://doi.org/10.1016/S1957-2557(16)30165-1)

Pharmacopée Européenne (Ph. Eur.). (2012). 9e Édition. Strasbourg : EDQM.

Pitocco, D., Spanu, T., Di Leo, M., Vitiello, R., Rizzi, A., Tartaglione, L., Fiori, B., Caputo, S., Tinelli, G., Zaccardi, F., Flex, A., Galli, M., Pontecorvi, A., & Sanguinetti, M. (2019). Diabetic foot infections: A comprehensive overview. In *European Review for Medical and Phar-*

Références bibliographiques

macological Sciences (Vol. 23, Issue 2, pp. 26–37). Verduci Editore s.r.l.
https://doi.org/10.26355/EURREV_201904_17471

R

Raja*, G., Shaker, I. A., & Inampudi, Mr. (2012). Nutritional analysis of nutsextract of Juglan-sregia l. International Journal of Bioassays, 1(10), 68. <https://doi.org/10.21746/ijbio.2012.10.001>

Rasool, A., & Dar, T. A. (2025). Glycyrrhizin and its derivatives: an emerging secondary metabolite arsenal of Glycyrrhiza glabra. In Medicinal Chemistry Research. Springer.
<https://doi.org/10.1007/s00044-025-03376-7>

Ray, H., Weis, C., Nwaeze, C., Zhou, V., Basu, P., & Mitra, A. (2025). Development and Control of Biofilms in Diabetic Foot Infections: A Narrative Review. In Acta Microbiologica Hellenica (Switzerland) (Vol. 70, Issue 1). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI).
<https://doi.org/10.3390/amh70010009>

Rezagui, M., & Chiahi, N. (2024). Evaluate the beneficial effects of Salvia officinalis L. extracts by assessing their activity. In Iranian Journal of Plant Physiology (Vol. 14, Issue 4).

Rizzato, G., Scalabrin, E., Radaelli, M., Capodaglio, G., & Piccolo, O. (2017). A new exploration of licorice metabolome. Food Chemistry, 221, 959–968.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.11.068>

Rohinishree, Y. S., & Negi, P. S. (2016). Effect of licorice extract on cell viability, biofilm formation and exotoxin production by Staphylococcus aureus. Journal of Food Science and Technology, 53(2), 1092–1100. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-2131-6>

Rohinishree, Y. S., & Negi, P. S. (2015). Effect of licorice extract on cell viability, biofilm formation and exotoxin production by Staphylococcus aureus. Journal of Food Science and Technology, 53(2), 1092–1100. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-2131-6>

S

Sarah Diyana Amran, S., Abd Rashid Syaida, A., Taufiq Mat Jalil, M., Hidayah Mohamad Nor, N., & Fakharul Zaman Raja Yahya, M. (2024). Science Letters Preparation of Biofilm Assay Using 96-Well and 6-Well Microplates for Quantitative Measurement and Structural Cha-

Références bibliographiques

- racterization: A Review. Science Letters, 18(2), 121–134.
<https://doi.org/10.24191/sl.v18i2.27020>
- Sato, A., Yamaguchi, T., Hamada, M., Ono, D., Sonoda, S., Oshiro, T., Nagashima, M., Kato, K., Okazumi, S., Katoh, R., Ishii, Y., & Tateda, K. (2019). Morphological and biological characteristics of staphylococcus aureus biofilm formed in the presence of plasma. Microbial Drug Resistance, 25(5), 668–676. <https://doi.org/10.1089/mdr.2019.0068>
- Sathya, S., Herath, H. M. D. R., Amarasinghe, N. R., & Suraweera, R. K. (2017). Formulation development of cream incorporating extracts of *Glycyrrhiza glabra* (Licorice). Pharmaceutical Journal of Sri Lanka, 7(0), 44. <https://doi.org/10.4038/pjsl.v7i0.19>
- Sedighinia, F., Safipour Afshar, A., Soleimanpour, S., Zarif, R., Asili, J., & Ghazvini, K. (2012). Antibacterial activity of Glycyrrhiza glabra against oral pathogens: an in vitro study. In Avicenna Journal of Phytomedicine Received: Vol. Accepted (Issue 3).
- Semenescu, I., Avram, S., Similie, D., Minda, D., Diaconeasa, Z., Muntean, D., Lazar, A. E., Gurgus, D., & Danciu, C. (2024). Phytochemical, Antioxidant, Antimicrobial and Safety Profile of Glycyrrhiza glabra L. Extract Obtained from Romania. Plants, 13(23). <https://doi.org/10.3390/plants13233265>
- Senneville, É., Albalawi, Z., van Asten, S. A., Abbas, Z. G., Allison, G., Aragón-Sánchez, J., Embil, J. M., Lavery, L. A., Alhasan, M., Oz, O., Uçkay, I., Urbančič-Rovan, V., Xu, Z. R., & Peters, E. J. G. (2024). Diagnosis of infection in the foot of patients with diabetes: A systematic review. Diabetes/Metabolism Research and Reviews, 40(3). <https://doi.org/10.1002/dmrr.3723>
- Shahi, S. K., & Kumar, A. (2016). Isolation and genetic analysis of multidrug resistant bacteria from diabetic foot ulcers. Frontiers in Microbiology, 6(JAN). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01464>
- Sharma, V., Agrawal, RC., & Pandey, S. (2013). PHYTOCHEMICAL SCREENING AND DETERMINATION OF ANTI-BACTERIAL AND ANTI-OXIDANT POTENTIAL OF Glycyrrhiza glabra ROOT EXTRACTS. <https://www.researchgate.net/publication/365666852>
- Shook, J. C., Genito, C. J., Darwitz, B. P., Tyson, K. J., Velez, A. Z., Bridwell, S. K., Parsons, J. B., Rowe, S. E., Marshall, C. W., Conlon, B. P., & Thurlow, L. R. (2025). Diabetes potentiates the emergence and expansion of antibiotic resistance. In Sci. Adv (Vol. 11). <https://www.science.org>

Références bibliographiques

- Singh, V., Pal, A., & Darokar, M. P. (2015).** A polyphenolic flavonoid glabridin: Oxidative stress response in multidrug-resistant *Staphylococcus aureus*. *Free Radical Biology and Medicine*, 87, 48–57. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2015.06.016>
- Stiani, S. N., Yusransyah, Y., Septiana, D., & Sumantri, I. B. (2024).** Effectivity and Evaluation of Licorice Root (*Glycyrrhiza glabra*) Extract Serum Formula as a Facial Brightening. *Research J. Pharm. and Tech*, 17(9). www.rjptonline.org
- Subbu lakshmi, S., Chelladurai, G., & Suresh, B. (2016).** In vitro studies on medicinal plants used against bacterial diabetic foot ulcer (BDFU) and urinary tract infected (UTI) causing pathogens. *Journal of Parasitic Diseases*, 40(3), 667–673. <https://doi.org/10.1007/s12639-014-0555-y>
- Sugandhi, P., & Arvind Prasanth, D. (2014).** Microbiological profile of bacterial pathogens from diabetic foot infections in tertiary care hospitals, Salem. *Diabetes and Metabolic Syndrome : Clinical Research and Reviews*, 8(3), 129–132. <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2014.07.004>
- Sultan, A., Bihan, H., Bouillet, B., Bouly, M., Bourgeon, M., Cellier, N., Cyteval, C., Dardari, D., Delisle, E., Desserprix, A., Domenge, F., Fourniols, E., Gaignot, B., Grumbach, M. L., Hartemann, A., Van, G. H., Labbe-Gentils, V., Michon, P., Muller, M., ... Vouillarmet, J. (2024).** Referentiel pied diabetique SFD 2024. *Medecine Des Maladies Metaboliques*, 18(2), 174–197. <https://doi.org/10.1016/j.mmm.2024.01.014>

T

- Tirumala, N., & K, L. R. (2025).** Bacteriological Profile of Diabetic Foot Ulcer With Special Reference to Biofilm Formation. *Cureus*. <https://doi.org/10.7759/cureus.80974>
- Tumilaar, S. G., Hardianto, A., Dohi, H., & Kurnia, D. (2023).** A Comprehensive Review of Free Radicals, Oxidative Stress, and Antioxidants: Overview, Clinical Applications, Global Perspectives, Future Directions, and Mechanisms of Antioxidant Activity of Flavonoid Compounds. In *Journal of Chemistry* (Vol. 2024). Hindawi Limited. <https://doi.org/10.1155/2024/5594386>

V

- Vestby, L. K., Grønseth, T., Simm, R., & Nesse, L. L. (2020).** Bacterial biofilm and its role in the pathogenesis of disease. In *Antibiotics* (Vol. 9, Issue 2). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9020059>

Références bibliographiques

Vijapur, L. S., Shalavadi, M., Desai, A. R., Hiremath, J. N., Gudigennavar, A. S., Shidramshettar, S. L., Hiremath, S. R., Peram, M. R., & Kittur, B. S. (2025). Wound healing potential of green synthesized silver nanoparticles of Glycyrrhiza glabra linn root extract: A pre-clinical study. *Journal of Trace Elements and Minerals*, 11. <https://doi.org/10.1016/j.jtemin.2025.100214>

W

Walana, W., Bobzah, B. P., Kuugbee, E. D., Acquah, S., Ezekiel, V. K., Yabasin, I. B., Abdul-Mumin, A., & Ziem, J. B. (2020). Staphylococcus aureus nasal carriage among healthcare workers, inpatients and caretakers in the Tamale Teaching Hospital, Ghana. *Scientific African*, 8. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2020.e00325>

Wang, L., Yang, R., Yuan, B., Liu, Y., & Liu, C. (2015). The antiviral and antimicrobial activities of licorice, a widely-used Chinese herb. In *Acta Pharmaceutica Sinica B* (Vol. 5, Issue 4, pp. 310–315). Chinese Academy of Medical Sciences. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2015.05.005>

Wahab, S., Annadurai, S., Abullais, S. S., Das, G., Ahmad, W., Ahmad, M. F., Kandasamy, G., Vasudevan, R., Ali, M. S., & Amir, M. (2021). Glycyrrhiza glabra (Licorice): A comprehensive review on its phytochemistry, biological activities, clinical evidence and toxicology. In *Plants* (Vol. 10, Issue 12). MDPI. <https://doi.org/10.3390/plants10122751>

Wu, S. C., Yang, Z. Q., Liu, F., Peng, W. J., Qu, S. Q., Li, Q., Song, X. Bin, Zhu, K., & Shen, J. Z. (2019). Antibacterial Effect and Mode of Action of Flavonoids From Licorice Against Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02489>

Wukich, D. K., Hobizal, K. B., & Brooks, M. M. (2013). Severity of diabetic foot infection and rate of limb salvage. *Foot and Ankle International*, 34(3), 351–358. <https://doi.org/10.1177/1071100712467980>

Y

Yadav, R., & Agarwala, M. (2011). Phytochemical analysis of some medicinal plants. *Journal of Phytology*, 3(12), 10–14. <http://journal-phytology.com/>

Références bibliographiques

Z

Zatla, A. T., & Hammoudi, A. (2024). Phytochemical Screening and Inflammatory Activity Evaluation of Hydroalcoholic Extract of Glycyrrhiza glabra Root †. <https://doi.org/10.3390/ecsoc-28>

Zhao, A., Sun, J., & Liu, Y. (2023). Understanding bacterial biofilms: From definition to treatment strategies. In *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* (Vol. 13). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1137947>



Annexes



Annexe 1

Instruments, Appareillage et réactifs utilisés

Tableau XVII : Matériel utilisé

Appareillage	Verrerie	Produits chimique	Milieu de culture	Autre matériel
Broyeur électrique Etuve Plaque chauffante Agitateur magnétique Evaporateur rotatif Autoclave Bain Marie Spectrophotomètre Réfrigérateur Bec bunsen Centrifugeuse Distillateur Balance de précision Microscope optique Centrifugeuse pH mètre	Bécher Erlenmeyers Tubes à essais Flacons Fiole jaugée Entonnoir Eprouvette Flacons en verre	Ethanol96% Méthanol L'eau distillée L'eau physiologique L'eau osmosée Trichlorure de fer (FeCL3) Hydroxyle de sodium (NaOH) Acide chlorhydrique (HCL) NH4OH Chloroforme KOH Ammoniaque (NH4OH) Acide sulfurique H2SO4 CuSO4 à 2%. Propanol DPPH Réactif Dragendroff Iode Liqueur de Fehling Colorant de fushine Crystal violet Lugol Benzoate de Sodium H2O2 PBS Acide ascorbique Réactif wagner Huile à émersion	Bouillon nutritif BHIB (Brain Heart Infusion Broth) Bouillon tryptone sel eau (TSE) Gélose nutritive (GN) Milieu Muller Hinton (MH) Gélose VRBL (lactose biliée au cristal violet et rouge neutre) Gélose Sabouraud milieu gélosé à base d'agar au mannitol salé (Chapman)	Papier filtre Boîtes de Pétri Pipettes Pasteur Ecouvillons Barreau magnétique Lames / lamelles Seringues Spatule métallique Pissette Micropipettes Embouts Microplaques à 96 puits Tubes secs Bistouri stérile N°21

Annexes



Figure 29 : Evaporateur rotatif (Photo originale, 2025)



Figure 30 : Vitamine C (Photo originale, 2025)



Figure 31 : Antibiotiques GEN et P (Photo originale, 2025)



Figure 32 : Microscope optique de marque OPTIKA (Photo originale, 2025)



Figure 33 : Bain marie (Photo originale, 2025)



Figure 34 : Etuve de marque FAITHFUL (Photo originale, 2025)



Figure 35 : Autoclave (Photo originale, 2025)

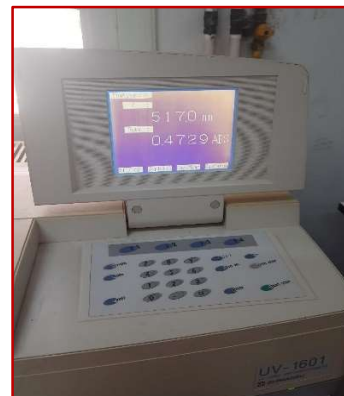


Figure 36 : Spectrophotomètre UV-Visible (Photo originale, 2025)

Annexes

- **Milieu de culture**

La préparation des milieux MH (Müller-Hinton) et Chapman commence par la liquéfaction des flacons de gélose correspondants au bain-marie. Une fois la gélose complètement liquéfiée, elle est versée dans des boîtes de Pétri de manière stérile, puis laissée à refroidir et à solidifier à température ambiante.



Figure 37 : Milieu MH
(Photo originale, 2025)



Figure 38 : Milieu Chapman
(Photo originale, 2025)



Figure 39 : Milieu GN
(Photo originale, 2025)

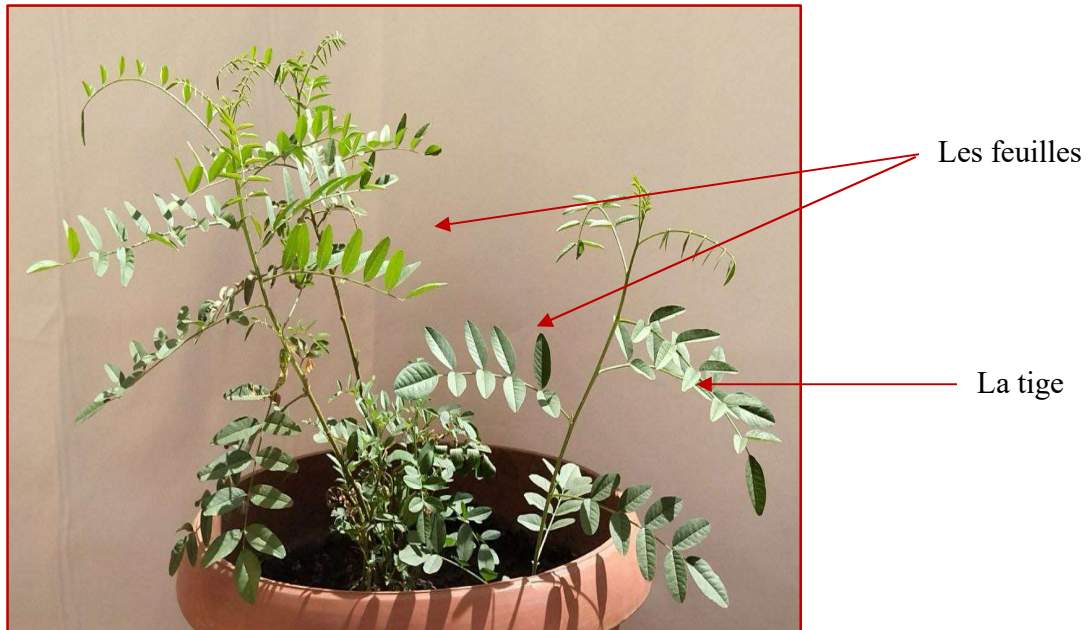


Figure 40 : Milieu BHIB
(Photo originale, 2025)



Figure 41 : Milieu TSE
(Photo originale, 2025)

Annexe 2



**Figure 42 : Différentes parties aériennes du la plante
Glycyrrhiza glabra L. (Photo originale, 2025)**

Annexes

Annexe 3 Rendement d'extraction

Tableau XVIII : Rendement d'extraction

	1 ^{er} essai	2 essai	Rendement (%)	Ecart-type
Extrait éthanolique des racines de <i>Glycyrrhiza glabra</i> L.	34,5 %	30,7 %	32,6 %	2,6870057685



Figure 43 : Extrait éthanolique et extrait sec de *Glycyrrhiza glabra* L.
(Photo originale, 2025)

Annexes

Annexe 4 Screening phytochimique

Tableau XIX : Résultats des tests phytochimique

Métabolites secondaire	Indicateur de la réaction	Observation	Résultats
Flavonoïdes	Incolore		++
Tanin galliques	Brun foncé à noir		+++
Saponines	Indice de mousse		++++(6,5 cm)
Coumarine	Apparition d'un trouble		++++
Composé phénolique	Vert foncé		+++

Annexes

Alcaloïdes	Réactif de Wagner → précipité brun		+++
	Réactif de Dragendorff → précipité orange		+++
Terpénoïdes	Brun rougeâtre		+++
Protéines	Verdâtre		-
Amidon	(Absence ou faible quantité) ne donne pas la couleur bleu typique		-

Annexes

Lipides	Brunette au lieu de violette				-
Stéroïdes (insaturés)	Coloration rouge				+++
Anthocyanes (leuco-anthocyanes)	Rouge				+++
Anthraquinones libre	Coloration rosevif				-

Annexe 5

Population d'étude Critères d'inclusion

- **Population étudiée :**

L'étude a porté sur les patients opérés en urgence ou selon un programme, hospitalisés dans le service de médecine interne entre mars et mai 2025. Seuls les patients ayant présenté une infection du pied diabétique ont été inclus.

- **Analyse :**

Des analyses bactériologiques ont été réalisées à partir de prélèvements de pus recueillis sur des ulcères neuropathiques infectés, afin d'identifier les agents pathogènes responsables.

- **Critères d'exclusion :**

Les patients initialement opérés dans les autres services. Les patients non hospitalisés dans le service de médecine interne de l'Établissement Public Hospitalier de Blida Ibrahim Tarchichine (EPH).

Annexes

Annexe 6 Fiche de prélèvement

Numéro de patient	Sexe	Age (ans)	Type de diabète	La durée pendant laquelle un patient est atteint de diabète
01	H	73	II	Plus de 20ans
02	H	74	II	Plus de 10ans
03	H	73	II	Plus de 20ans
04	H	54	II	Plus de 10ans
05	H	74	II	Depuis 24ans
06	H	75	II	Plus de 10ans
07	H	66	II	Depuis 20 ans
08	H	73	II	Depuis 15ans
09	H	74	II	/
10	H	79	II	Depuis 1992
11	H	78	II	Depuis 2018
12	H	41	II	Depuis 30 ans
13	H	65	II	Depuis 20ans
14	H	78	II	Il y'a 7ans
15	H	57	II	Depuis 10ans
16	H	79	II	Depuis 20 ans
17	H	77	II	Depuis 20 ans
18	H	42	II	Depuis 10ans
19	H	42	II	Depuis 10ans
20	H	42	II	Depuis 10ans
21	H	71	II	Depuis 20ans
22	H	76	II	Depuis 30ans
23	H	75	II	Depuis 20ans
24	H	74	II	Depuis 15ans
25	H	79	II	Depuis 20ans
26	H	43	II	Depuis 10ans
27	H	71	II	Depuis 20ans

Annexe 7

Tests biochimiques d'identification bactérienne (*staphylococcus aureus*)

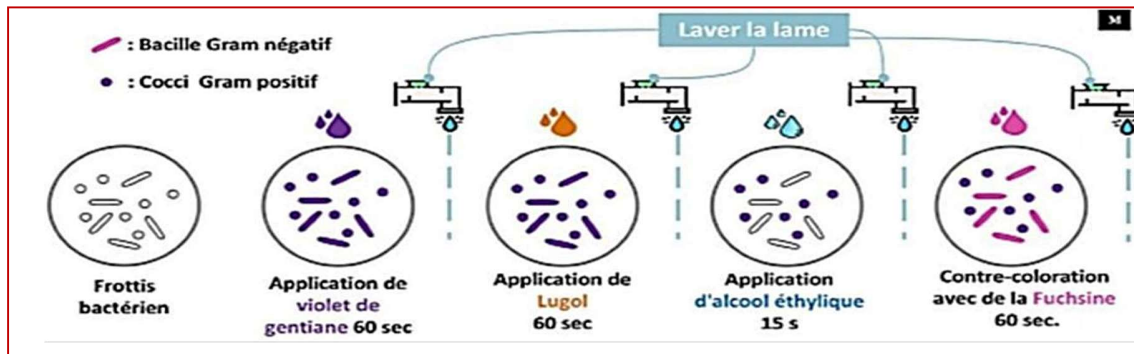


Figure 44 : Etapes de la coloration de Gram

Résultats de la coloration de gram : Observations au microscope optique (G× 400)

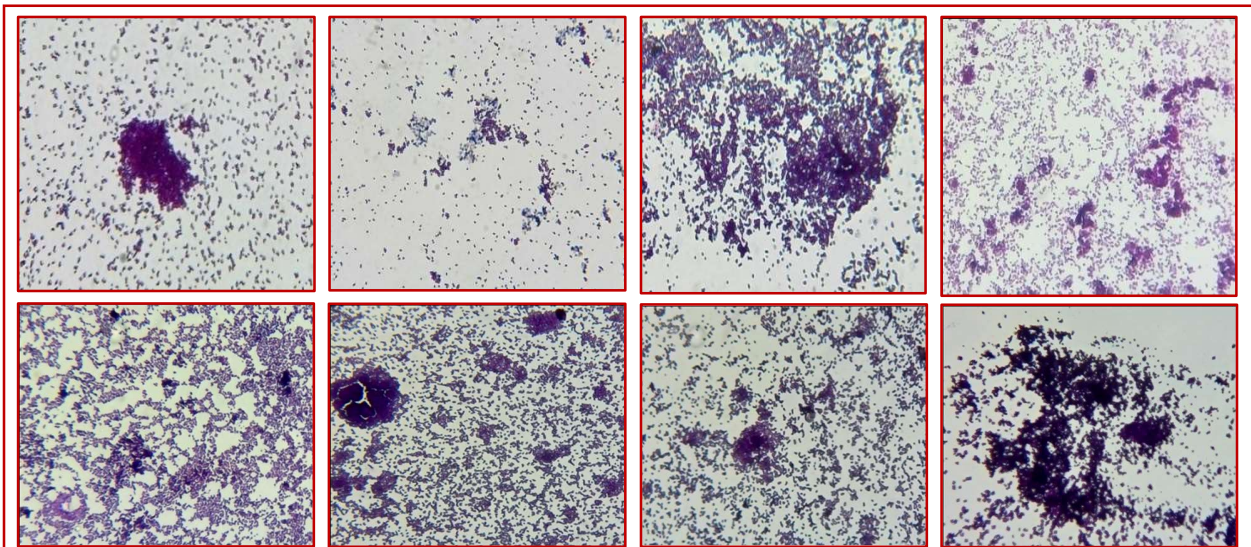


Figure 45 : Résultats de la coloration de Gram « *Staphylococcus aureus* : cocci en grappe de raisin » Gram positif (Photos originales, 2025).

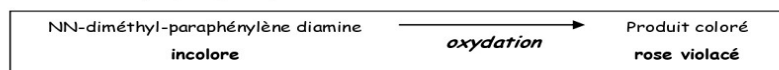
L'OXYDASE

1. Intérêt

La recherche de l'oxydase présente un **intérêt taxonomique** en ce qui concerne **les bactéries à Gram -**.

2. Principe

Le test consiste à mettre en évidence la capacité que possède la bactérie à oxyder un réactif incolore (la NN-diméthyl-paraphénylène diamine) en un dérivé rose violacé.

3. Technique

- placer un disque non imprégné sur une lame à l'aide d'une **pince flambée**,
- déposer une goutte de réactif sur le disque non imprégné,
- avec **une pipette Pasteur** prélever une colonie sur milieu solide (GO) et la déposer doucement sur le disque

Remarques :

- Ne pas utiliser l'anse métallique pour prélever les bactéries. En effet, le métal peut être recouvert d'un oxyde et donner un résultat faussement positif.
- Le milieu solide ne doit pas contenir d'indicateur de pH, ni de glucides

4. Lecture

Pas de lecture avant 30 secondes environ

Tâche rose violette	Pas de tâche rose violette
La bactérie possède l'activité oxydase, elle est dite :	La bactérie ne possède pas l'activité oxydase, elle est dite :
Oxydase + 	Oxydase - 

Causes d'erreurs :

- réalisation du test sur un milieu glucidique (une fermentation peut cacher une respiration)
- humidification trop importante du disque, entraînant une élimination du réactif
- quantité de bactéries insuffisante
- réactif périmé (l tester avec une souche oxydase + et une souche oxydase -)
- utilisation d'un instrument « oxydase + »
- lecture trop tardive : au delà de 30 secondes

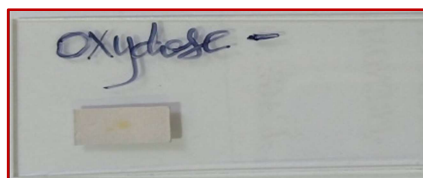


Figure 46 : Résultats de test d'oxydase (Photo originale, 2025)

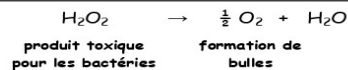
LA CATALASE

1. Intérêt

La recherche de la catalase présente un **intérêt taxonomique** en ce qui concerne **les bactéries à Gram +**.

2. Principe

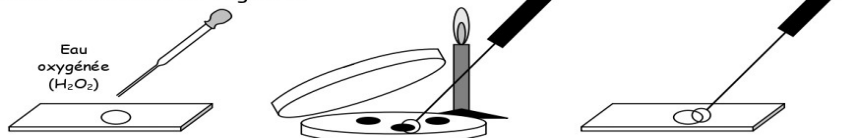
La catalase est une enzyme qui catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) :



Le test consiste à mettre des bactéries en quantité suffisante en contact de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Si elles possèdent la catalase, elles dégradent le peroxyde d'hydrogène en eau et dioxygène visible par la **formation de bulles**.

3. Technique

- déposer sur une lame **une goutte d'eau oxygénée** (= peroxyde d'hydrogène) à l'aide d'une pipette Pasteur
- prélever une colonie à l'aide de l'anse
- dissocier la colonie dans la goutte



Remarque : l'utilisation de l'anse est possible à condition qu'elle ne possède pas d'action catalasique, ce que l'on vérifiera facilement par un test sans bactérie.

4. Lecture

Bulles d'oxygène	Pas de bulle
La bactérie possède la catalase, elle est dite :	La bactérie ne possède pas la catalase, elle est dite :
Catalase +	Catalase -
	

Causes d'erreurs :

- réalisation du test sur un milieu contenant la catalase
Exemple : réalisation du test à partir de colonies prélevées sur gélose au sang (l'hémoglobine possède une activité catalasique pouvant donc donner des résultats faussement positifs)
- quantité de bactéries insuffisante
- eau oxygénée périmée (la tester avec une souche catalase +)



Figure 47 : Résultats de test catalase (Photo originale, 2025)

Teste coagulase

Staphylococcus aureus est connu pour produire de la coagulase, qui peut coaguler le plasma en gel dans un tube ou agglutiner des coques dans une lame. Ce test est utile pour différencier *S.aureus* des autres *staphylocoques* à coagulase négative. La plupart des souches de *S.aureus* produisent deux types de coagulase, la coagulase libre et la coagulase liée. Alors que la coagulase libre est une enzyme sécrétée de manière extracellulaire, la coagulase liée est une protéine associée à la paroi cellulaire. La coagulase libre est détectée dans le test de coagulase en tube et la coagulase liée est détectée dans le test de coagulase sur lame. Le test de coagulase sur lame peut être utilisé pour dépister les isolats de *S.aureus* et la coagulase en tube peut être utilisée pour la confirmation.

1. Teste de coagulas sur lame

- **Principe :** La coagulase liée est également appelée facteur d'agglutination. Il réticule les chaînes α et β du fibrinogène dans le plasma pour former un caillot de fibrine qui se dépose sur la paroi cellulaire. En conséquence, les coques individuelles se collent les unes aux autres et une agglomération est observée.
- **Procédure :** Des suspensions denses de Staphylocoques issues de cultures sont réalisées sur les deux extrémités d'une lame de verre propre. L'un doit être étiqueté comme « test » et l'autre comme « contrôle ». La suspension de contrôle sert à exclure toute fausse positivité due à l'autoagglutination. La suspension test est traitée avec une goutte de plasma citraté et bien mélangée. L'agglutination ou l'agglutination des coques dans les 5 à 10 secondes est considérée comme positive. Certaines souches de *S.aureus* peuvent ne pas produire de coagulase liée et ces souches doivent être identifiées par un test de coagulase en tube.

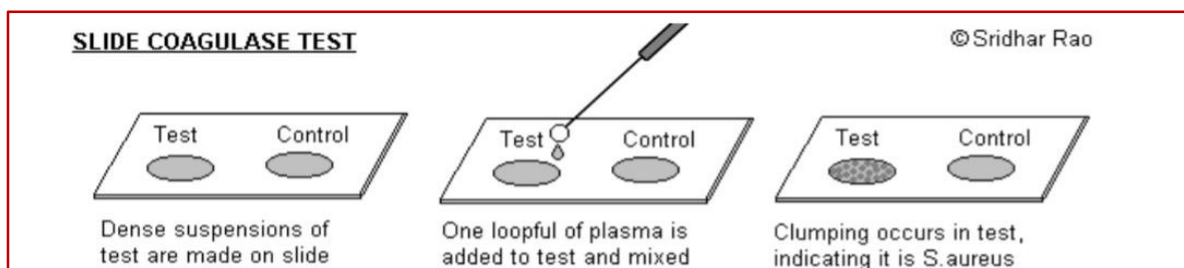


Figure 48 : Teste de coagulase sur lame

Annexes

2. Teste de coagulase en tube :

- **Principe :** La coagulase libre sécrétée par *S.aureus* réagit avec le facteur de réaction de la coagulase (CRF) dans le plasma pour former un complexe qui est la thrombine. Cela convertit le fibrinogène en fibrine, entraînant la coagulation du plasma.
- **Procédure :** Trois tubes à essai sont prélevés et étiquetés « test », « contrôle négatif » et « contrôle positif ». Chaque tube est rempli de 0,5 ml de plasma sanguin d'un patient sain. Au tube étiqueté test, 0,1 ml de bouillon de culture de bactéries testées pendant une nuit est ajouté. Au tube étiqueté contrôle positif, 0,1 ml de bouillon de culture pendant une nuit de *S.aureus* connu est ajouté et au tube étiqueté contrôle négatif, 0,1 ml de bouillon stérile est ajouté. Tous les tubes sont incubés à 37° C et observés pendant quatre heures maximums. Un résultat positif est indiqué par une gélification du plasma qui reste en place même après retournement du tube. Si le test reste négatif pendant quatre heures à 37° C, le tube est conservé à température ambiante pour une incubation d'une nuit.

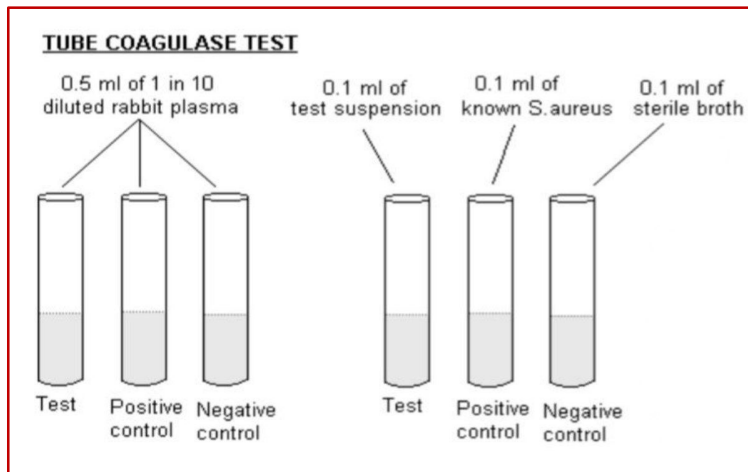


Figure 49 : Teste de coagulase en tube (Photo originale,2025)

Annexe 8



Figure 50 : Réisolement des souches bactériennes de référence (ATCC) sur milieu GN solide (Photo originale,2025).

Table de lecture 4 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Staphylococcus spp.*

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Penicilline	10 UI	28	---	29	0.25	---	0.12	Le test de la β -lactamase confirme les cas douteux (voir « Tests complémentaires »). Interprétation valable pour toutes les pénicillines inactivées par les β -lactamases (ampicilline, ticarcilline, piperacilline,...).
Oxacilline (<i>S. aureus</i>)	1 µg	10	11 – 12	13	4	---	2	Tester le disque de céfoxitine 30 µg pour détecter la résistance à la méthicilline de <i>S. aureus</i> et des staphylocoques à coagulation négative.
Céfoxitine (<i>S. aureus</i> et <i>S. lugdunensis</i>)	1 µg	---	---	---	4	---	2	En cas de résultat intermédiaire ou de discordance entre les disques d'oxacilline et de céfoxitine, se référer au chapitre « Tests complémentaires ».
Oxacilline (<i>S. C.N.</i> sauf <i>S. lugdunensis</i>)	30 µg	21	---	22	8	---	4	La résistance à la céfoxitine (et à l'oxacilline) signifie la résistance à toute la famille des β -lactamines.
Céfoxitine (<i>S.C.N.</i> sauf <i>S. lugdunensis</i>)	1 µg	---	---	---	0.5	---	0.25	
Céfoxitine (<i>S.C.N.</i> sauf <i>S. lugdunensis</i>)	30 µg	24	---	25	---	---	---	
Gentamicine	10 µg	12	13 – 14	15	16	8	4	Les souches résistantes à la gentamicine sont résistantes à tous les autres aminosides sauf à la streptomycine.**
Kanamycine	30 µg	13	14 – 17	18	64	32	16	Pour <i>S. aureus</i> , les souches résistantes à la Kanamycine doivent être interprétées « R » à l'amikacine quelque soit le diamètre autour de l'amikacine**.
Amikacine	30 µg	14	15 – 16	17	64	32	16	
Erythromycine	15 µg	13	14 – 22	23	8	1-4	0.5	Détecter la résistance inducible en plaçant le disque d'érythromycine à côté du disque de clindamycine. En présence d'une image d'antagonisme, répondre « Résistance à l'érythromycine et clindamycine ».
Clindamycine	2 µg	14	15 – 20	21	4	1-2	0.5	

Standardisation des Antibiogrammes à l'échelle nationale (infectiologie humaine et vétérinaire)

Figure 51 : Table de lecture des valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Staphylococcus spp* (Photo originale,2025).

Annexes

Annexe 9

Valeurs des diamètres de la zone d'inhibition et pourcentage d'inhibition de la solution hygiénique.

Tableau XX : L'écart type des résultats de test d'aromatogramme

Souches pathogènes	Solution hyéiginique de les rasines de <i>Glycyrrhiza glabra</i> L.				
	(1 ^{er} essai) Diamètres (mm)	(2 ^{ème} es- sai) Dia- mètres (mm)	(3 ^{ème} essai) Diamètres (mm)	Moyenne	Ecart-type
<i>Staphylococcus aureus</i> 01	15	14	12,5	14,5	1,2583057392
<i>Staphylococcus aureus</i> 02	15	15	15	15	0,0
<i>Staphylococcus aureus</i> 03	41	29	00	35	21,079216376
<i>Staphylococcus aureus</i> 04	18	14	15	16	2,0816659994
<i>Staphylococcus aureus</i> 05	20	20	20	20	0,0
<i>Staphylococcus aureus</i> 06	14	13	12	13	1,0
<i>Staphylococcus aureus</i> 07	14	13,5	13	14,5	0,5
<i>Staphylococcus aureus</i> 08	16	16	14	15	0,5773502691
<i>Staphylococcus aureus</i> 09	49	40	39	43	5,5075705472
<i>Staphylococcus aureus</i> 10	17	15	13,5	15	1,7559422921
<i>Staphylococcus aureus</i> 11	22	20	20	20,5	1,1547005383
<i>Staphylococcus aureus</i> 12	29,5	26	25,5	27	2,1794494717
<i>Staphylococcus aureus</i> 13	45	44	43	44	1,0
<i>Staphylococcus aureus</i> 14	50	49	00	49	28,583211719
<i>Staphylococcus aureus</i> 15	23,5	20	18	21	1,9803718715
<i>Staphylococcus aureus</i> 16	33	30	26	30	2,4874685927
<i>Staphylococcus aureus</i> 17	21	20	20	20	0,4330127018

Annexe 10



Figure 52 : Résultats de la Concentration Minimale Inhibitrice CMI sur la microplaque Pour les *Staphylococcus aureus* (Photo originale, 2025).



Figure 53 : Résultats de CMB de la microplaque pour les *Staphylococcus aureus* (Photos originales, 2025).



Figure 54 : Résultats de test biofilm pour *Staphylococcus aureus* (Photo originale, 2025).

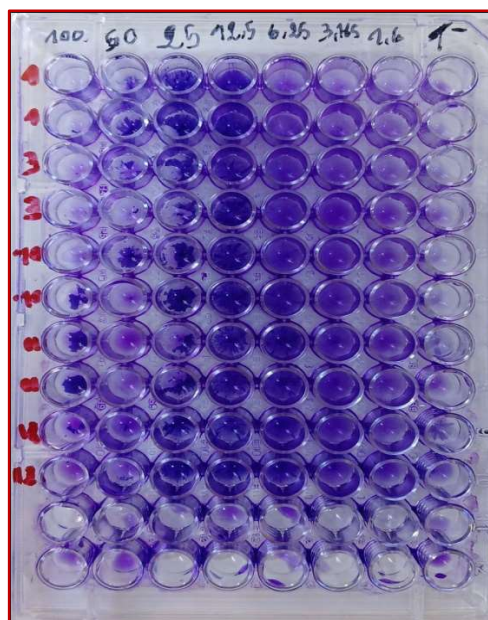


Figure 55 : Résultats de test antibiofilm pour *Staphylococcus aureus* (Photo originale, 2025)

Annexe 11
Tableau XXI : Résultats du test de DPPH (les densités optiques)

Concentration [µg/ml]	DO de l'extrait de <i>Glycyrrhiza glabra</i> L.	DO de la vitamine C
100	0,036	0,074
250	0,031	0,06
500	0,024	0,04
1000	0,023	0,034

Annexes

Annexe 12

Etude statistique Analyse de variance ANOVA : un facteur 1.

1.

- **H0** : il n'y a pas de différence significative entre l'effet antibactérienne de l'extrait éthanolique des racines de *Glycyrrhiza glabra* L. et la Gentamicine sur les ATCC.
- **H1** : y'a une différence significative entre l'effet antibactérienne de l'extrait éthanolique des racines de *Glycyrrhiza glabra* L. et la Gentamicine sur les ATCC.

RAPPORT DÉTAILLÉ

Groupes	Nombre d'échantillons	Somme	Moyenne	Variance
Diamètre d'inhibition d'extrait	4	97	24,25	18,25
Diamètre d'inhibition de GEN	4	119	29,75	30,25

ANALYSE DE VARIANCE

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Entre Groupes	60,5	1	60,5	2,49484536	0,165299625	5,987377607
A l'intérieur des groupes	145,5	6	24,25			
Total	206	7				

La probabilité = 0.16 > à 0.05, H0 est retenu et H1 est rejetée, donc il n'y a pas de différence significative entre l'effet antibactérien de l'extrait éthanolique des racines de *Glycyrrhiza glabra* L. et la gentamicine sur les ATCC.

Annexes

2.

- **H0** : il n'y a pas de différence significative entre l'effet antibactérienne de l'extrait éthanolique des racines de *Glycyrrhiza glabra* L. et la Pénicilline sur les ATCC.
- **H1** : y'a une différence significative entre l'effet antibactérienne de l'extrait éthanolique des racines de *Glycyrrhiza glabra* L. et la Pénicilline sur les ATCC.

RAPPORT DÉTAILLÉ

Groupes	Nombre d'échantillons	Somme	Moyenne	Variance
Diamètre d'inhibition d'extrait	4	97	24,25	18,25
Diamètre d'inhibition de PEN	4	35	8,75	306,25

ANALYSE DE VARIANCE

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur cri- tique pour F
Entre Groupes	480,5	1	480,5	2,9614792	0,136056099	5,987377607
A l'intérieur des groupes	973,5	6	162,25			
Total	1454	7				

La probabilité = 0.14 > à 0.05, H0 est retenu et H1 est rejetée, donc il n'y a pas de différence significative entre l'effet antibactérien de l'extrait éthanolique des racines de *Glycyrrhiza glabra* L. et la pénicilline sur les ATCC.

Annexes

3.

- **H0** : il n'y a pas de différence significative entre l'effet antibactérienne de la solution hygiénique et la gentamicine sur les bactéries d'origine des prélèvements cliniques.
- **H1** : y'a une différence significative entre l'effet antibactérienne de la solution hygiénique et la gentamicine sur des bactéries d'origine des prélèvements cliniques.

RAPPORT DÉTAILLÉ

<i>Groupes</i>	<i>Nombre d'échantillons</i>	<i>Somme</i>	<i>Moyenne</i>	<i>Variance</i>
Diamètre d'inhibition de la solution hygiénique	17	409	24,05882353	137,933824
Diamètre d'inhibition de la gentamicine	17	295	17,35294118	98,8676471

ANALYSE DE VA- RIANCE

<i>Source des variations</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Degré de liberté</i>	<i>Moyenne des carrés</i>	<i>F</i>	<i>Probabilité</i>	<i>Valeur critique pour F</i>
Entre Groupes	382,2352941	1	382,2352941	3,22831858	0,081820265	4,149097446
A l'intérieur des groupes	3788,823529	32	118,4007353			
Total	4171,058824	33				

La probabilité = 0.08 > à 0.05, H0 est retenu et H1 est rejetée, donc il n'y a pas de différence significative entre l'effet antibactérien de la solution hygiénique et la gentamicine sur les bactéries d'origine des prélèvements cliniques.

Annexes

4.

- **H0** : il n'y a pas de différence significative entre l'effet antibactérienne de la solution hygiénique et la pénicilline sur les bactéries d'origine des prélèvements cliniques.
- **H1** : y'a une différence significative entre l'effet antibactérienne de la solution hygiénique et la pénicilline sur des bactéries d'origine des prélèvements cliniques.

RAPPORT DÉTAILLÉ

<i>Groupes</i>	<i>Nombre d'échantillons</i>	<i>Somme</i>	<i>Moyenne</i>	<i>Variance</i>
Diamètre d'inhibition de la solution hygiénique	17	410	24,11764706	138,829044
Diamètre d'inhibition de la pénicilline	17	92	5,411764706	47,2573529

ANALYSE DE VARIANCE

<i>Source des variations</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Degré de liberté</i>	<i>Moyenne des carrés</i>	<i>F</i>	<i>Probabilité</i>	<i>Valeur cri- tique pour F</i>
Entre Groupes	2974,235294	1	2974,235294	31,9661764	2,96341E-06	4,149097446
A l'intérieur des groupes	2977,382353	32	93,04319853			
Total	5951,617647	33				

La probabilité = 2.96 > à 0.05, H0 est fortement retenu et H1 est rejetée, donc il n'y a pas de différence significative entre l'effet antibactérien de la solution hygiénique et la pénicilline sur les bactéries d'origine des prélèvements cliniques.

Annexes

5.

- **H0** : il n'y a pas de différence significative entre l'activité antioxydante de l'extrait éthanolique des racines de *Glycyrrhiza glabra* L. et l'acide ascorbique.
- **H1** : y'a une différence significative entre l'activité antioxydante de l'extrait éthanolique des racines de *Glycyrrhiza glabra* L. et l'acide ascorbique.

RAPPORT DÉTAILLÉ

Groupes	Nombre d'échantillons	Somme	Moyenne	Variance		
Pourcentage d'inhibition d'extrait de <i>Glycyrrhiza glabra</i> L	4	236.81	59.2025	80.8019583		
Pourcentage d'inhibition de la l'acide ascorbique	4	114.27	28.5675	484.370092		
ANALYSE DE VARIANCE						
Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Entre Groupes	1877,00645	1	1877,00645	6,64224797	0,041923845	5,987377607
A l'intérieur des groupes	1695,51615	6	282,586025			
Total	3572,5226	7				

La probabilité = 0,04 < à 0.05, H0 est rejetée et H1 est retenu, donc y'a une différence significative entre l'activité antioxydante de l'extrait éthanolique des racines de *Glycyrrhiza glabra* L. et l'acide ascorbique.

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة سعد دحلب بليلة (1)
Université SAAD DAHLEB-Blida1



Faculté des Sciences de la Nature et de la
Vie Département de Biologie
Mémoire de fin d'études
En vue de l'obtention du diplôme de Master dans le domaine
SNV
Filière : Sciences Biologiques
Option : **Biochimie**

Thème :

**Potentiel thérapeutique d'une solution hygiénique à base de
Glycyrrhiza glabra L. dans la prise en charge de l'infection du
pied diabétique**

Présenté par :

soutenu le : 02/07/2025

M^{elle} ABDELBAKI. Insaf
M^{elle} KHELIF. Yousra
M^r RAMOUL. Yasser

Devant le jury composé de :

Dr. DROUCHE.I
Dr. TOUAIBIA.M
Dr. DJAIRENE.N

MCB/USDB1
MCA/USDB1
Docteur /USDB1

Présidente
Examinatrice
Promotrice

Année universitaire :2024/2025